
Charakterisierung des bronchoalveolären Zellmusters bei
Respiratorischer Bronchiolitis-Interstitieller
Lungenerkrankung (RB-ILD) - Hinweise für eine definierte
Entzündung und diagnostische Aspekte

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Julie Bloem (geb. Wagner)

geboren am 14.07.1992 in Bad Reichenhall

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dr. Claus Kroegel, Jena
2. apl. Prof. Dr. Udo Markert, Jena
3. Prof. Dr. Ulrich Costabel, Essen

Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.09.2020

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis.....	4
2	Zusammenfassung	5
3	Einleitung.....	8
3.1	Raucherassoziierte interstitielle Lungenerkrankungen.....	8
3.1.1	Klassifikation.....	8
3.1.2	Pathogenese	9
3.2	Bronchiolitiden	10
3.2.1	Definition.....	10
3.2.2	Respiratorische Bronchiolitis (RB)	10
3.2.3	Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung (RB-ILD)	11
3.2.3.1	Definition.....	11
3.2.3.2	Pathogenese	12
3.2.3.3	Differentialdiagnosen	12
3.2.3.4	Therapie und Prognose	14
4	Fragestellung.....	15
5	Material und Methoden.....	17
5.1	Patienten	17
5.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien für Patienten mit RB-ILD.....	18
5.1.2	Alter, Geschlecht und Raucherstatus.....	18
5.2	Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf RB-ILD	19
5.2.1	Anamnese und Klinik	19
5.2.2	Lungenfunktion	20
5.2.3	Radiologische Befunde.....	20
5.2.4	Bronchoskopie/BAL.....	22
5.2.5	Histologische Befunde.....	23
5.2.6	Blutbild.....	23
5.3	Bronchoalveoläre Lavage (BAL) im Rahmen der Bronchoskopie	24
5.3.1	Definition.....	24

5.3.2	Durchführung	25
5.3.3	Aufarbeitung der BAL-Zellen	26
5.4	Statistische Auswertung.....	27
6	Ergebnisse.....	28
6.1	Alter, Geschlecht und Raucherstatus	28
6.2	Blutbild	30
6.3	Bronchoalveoläre Zellen.....	38
6.3.1	CD3 ⁺ T-Lymphozyten.....	38
6.3.2	CD4 ⁺ T-Lymphozyten.....	40
6.3.3	CD8 ⁺ T-Lymphozyten.....	41
6.3.4	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Quotient bronchoalveolärer T-Lymphozyten	43
6.3.5	CD4 ⁺ CD25 ⁺ T-Lymphozyten	44
6.3.6	CD4 ⁺ CD103 ⁺ T-Lymphozyten.....	46
6.3.7	Bronchoalveoläre B-Zellen	47
6.3.8	Pigmentmakrophagen	49
6.3.9	NK-Zellen.....	50
6.3.10	NKT-Zellen	52
6.3.11	Kombiniertes Auftreten mehrerer Zellveränderungen in der BAL	53
6.4	Lungenfunktion.....	54
6.5	Hochauflösende Computertomographie (HRCT).....	60
6.5.1	Emphysem	61
6.5.2	Mosaikmuster	61
6.5.3	Zentrilobuläre Noduli	62
6.5.4	Kombiniertes Auftreten mehrerer HRCT-Veränderungen	63
6.5.5	Lymphadenopathie	63
6.5.6	Weitere Veränderungen im HRCT.....	63
7	Diskussion.....	65
7.1	Definition eines charakteristischen bronchoalveolären Zellmusters bei RB-ILD.....	66
7.2	Bedeutung des bronchoalveolären Zellmusters für die Pathogenese der RB-ILD.....	66
7.2.1	RB-ILD als unspezifische bronchoalveoläre Entzündung	67
7.2.2	RB-ILD als spezifische immunologische Erkrankung	69

7.2.3	RB-ILD als Autoimmunkrankheit.....	72
7.3	Pathogenese der RB-ILD	73
7.4	Beziehung zwischen RB-ILD und COPD	74
7.5	RB-ILD versus Raucher ohne RB-ILD	75
7.6	Bedeutung des bronchoalveolären Zellmusters für die Diagnostik der RB-ILD.....	76
7.7	Histologisch-gesicherte versus nicht histologisch-gesicherte RB-ILD	78
7.8	Veränderungen in der Lungenfunktion bei RB-ILD	79
7.9	Charakterisierung der radiologischen Veränderungen bei RB-ILD	80
7.10	Limitationen.....	82
8	Schlussfolgerung und Ausblick	83
9	Literatur	85
10	Anhang	99

1 Abkürzungsverzeichnis

BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Broncholalveoläre Lavageflüssigkeit
CD	Cluster of Differentiation
COP	Kryptogen organisierende Pneumonie
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
DIP	Desquamative Interstitielle Pneumonie
DLCO/VA	Transferkoeffizient
EAA	Exogen Allergische Alveolitis
FACS	Fluorescence-activated cell sorting
FEV1	Forciertes expiratorisches Volumen innerhalb einer Sekunde
FEV1/VC	Relative Einsekundenkapazität
HRCT	Hochauflösende Computertomographie
IL	Interleukin
ILD	Interstitielle Lungenerkrankung
IPF	Idiopathische Lungenfibrose
NK-Zelle	Natürliche Killer-Zelle
NKT-Zelle	Natürliche Killer-T-Zelle
Normb.	Normbereich
PLCH	Pulmonale Langerhans-Zell-Histiozytose
PY	Pack Years/Packungsjahre
RA	Rheumatoide Arthritis
RB	Respiratorische Bronchiolitis
RB-ILD	Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung
RB-ILDG	Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung gesamt
RB-ILDH	Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung histologisch-gesichert
RV	Residualvolumen
TH-Zelle	T-Helfer-Zelle
TLC	Totale Lungenkapazität
T _{reg} -Lymphozyten	Regulatorische CD4 ⁺ T-Lymphozyten
VATS	Videoassistierte thoraskopische Chirurgie

2 Zusammenfassung

Hintergrund und Fragestellung: Der chronische Zigarettenabusus stellt den wichtigsten Risikofaktor für die Entstehung entzündlicher Veränderungen der kleinen Atemwege dar. Diese sogenannte Respiratorische Bronchiolitis (RB) zeichnet sich histologisch durch eine Entzündung mit bronchiolozentrischer Akkumulation von pigmentierten Makrophagen aus. Treten zudem Symptome auf oder kommt es zu einer Verschlechterung der Lungenfunktion bzw. zu radiologischen Veränderungen wird dies als Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung (RB-ILD) bezeichnet.

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) mit Differential- und Immunzytologie bildet einen wichtigen diagnostischen Ansatz und bietet einen wissenschaftlichen Zugang bei vielen Lungenerkrankungen. Ein spezifisches zelluläres Muster im Rahmen raucherassoziiierter interstitieller Lungenerkrankungen wie z.B. der RB-ILD ist bis heute allerdings nicht bekannt. Auch die Bedeutung der bei Rauchern im Bronchoalveolarraum vorkommenden Pigmentmakrophagen für die Erkrankung ist nicht geklärt; ebenso wie die Frage, ob es zu einer Vermehrung weiterer Entzündungszellen in der BAL kommt. Ferner ist nicht bekannt, ob und in welcher Form das bronchoalveoläre Zellmuster mit den radiologischen Veränderungen der Bronchiolitis korrespondiert. Darüber hinaus ist unklar, ob die RB-ILD nur eine Vorstufe der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) darstellt oder als eine eigenständige Erkrankung betrachtet werden muss.

Die vorgelegte Studie soll die zellulären Veränderungen und damit auch Hinweise auf die Pathogenese der Erkrankung sowie einen möglichen diagnostischen Zugang bei raucherassoziierten interstitiellen Lungenerkrankungen am Beispiel der RB-ILD untersuchen. Darüber hinaus sollen mögliche Zusammenhänge zwischen den zellulären Parametern, der Anamnese, der Bildgebung und der Lungenfunktion untersucht werden.

Material und Methoden: Die Studie beinhaltet Daten von 43 Personen, bei denen zwischen 2002 und 2015 aus diagnostischen Zwecken eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) in der Pneumologischen Abteilung der Universitätsklinik Jena (Prof. Dr. Dr. med. Kroegel) durchgeführt wurde. Die Patienten werden für die Studie anhand des Ergebnisses der BAL und weiterer Diagnosekriterien (siehe Abschnitt 5) retrospektiv in vier Gruppen eingeteilt (Gesunde Kontrollen, Patienten mit Sarkoidose und Patienten mit histologisch-gesicherter RB-ILD bzw. solche mit einer klinisch diagnostizierten RB-ILD).

Bei 21 Patienten zeigen sich im HRCT Zeichen einer Bronchiolitis und anamnestisch ein Zigarettenkonsum von mindestens 10 Pack Years (PY) zum Zeitpunkt der BAL, so dass sie die RB-ILD-Gruppe bilden. Diese Gruppe besteht aus zwei Untergruppen: (1) histologisch-gesicherte RB-ILD und (2) nicht histologisch-gesicherte RB-ILD. Die Ausschlusskriterien für diese Gruppen umfassen eine akute Infektion, eine schwere Komorbidität und eine aktuelle systemische Kortikosteroidtherapie zum Zeitpunkt der Untersuchung. Der mediane Rauchkonsum aller 21 RB-ILD-Patienten lag zum Zeitpunkt der BAL bei 30 Pack Years. Eine Kontrollgruppe besteht aus Patienten mit histologisch-gesicherter Sarkoidose ohne Nikotinabusus. Eine weitere Kontrollgruppe besteht aus gesunden Nichtrauchern.

Die vier Gruppen werden im Hinblick auf das zelluläre Muster in der BAL miteinander verglichen. Zudem werden das Blutbild, die Lungenfunktion und der HRCT-Befund der RB-ILD-Patienten mit den Sarkoidose-Patienten verglichen.

Ergebnisse und Beobachtungen: Der relative Anteil der Pigmentmakrophagen in der BAL war bei der RB-ILD verglichen mit den Kontrollgruppen signifikant erhöht (bis zu >60% bei einem Normwert von <3%). Bei den Kontrollgruppen hingegen wurden nahezu keine Pigmentmakrophagen in der BAL gefunden (Median: 0,00%). Bei 86% aller RB-ILD-Patienten zeigte sich in der BAL eine signifikante Erhöhung der Natürlichen Killer T-Zellen (medianer relativer Anteil der NKT-Zellen an Gesamtlmphozyten: 17%) in Kombination mit der Vermehrung mindestens vier anderer Lymphozyten-Subtypen. Zudem fand sich eine signifikante Vermehrung der Zahl der Natürlichen Killerzellen (medianer relativer Anteil der NK-Zellen an Gesamtlmphozyten: 4%) verglichen mit der Sarkoidose und den Gesunden. Darüber hinaus zeigte sich bei RB-ILD eine Expansion der B-Zellen um das 1,5fache sowie der CD4⁺CD25⁺ T-Lymphozyten um das 3fache verglichen mit den Kontrollgruppen. Der relative Anteil der CD8⁺T-Lymphozytenzahl war ebenfalls höher (im Median: 33%) als in den Kontrollgruppen und der CD4/CD8-Quotient leicht erniedrigt (1,3). Ferner zeigte sich eine Vermehrung der CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten (36%) gegenüber den beiden Kontrollgruppen. Zwischen den histologisch-gesicherten und nicht histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten fanden sich bis auf einen leicht erniedrigten CD4/CD8-Quotienten bei der histologisch-gesicherten RB-ILD sowie eine deutlichere Vermehrung an Pigmentmakrophagen bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD keine signifikanten Unterschiede im Zellmuster der BAL. Im Blutbild waren keine Unterschiede bei den Zelltypen zwischen den Gruppen erkennbar. Im HRCT konnten bei 71% aller RB-ILD-Patienten mindestens zwei für eine Bronchiolitis typische Veränderungen (zentrilobuläre Noduli, Mosaikmuster) nachgewiesen werden. Andere

bei raucherassoziierten Lungenerkrankungen bereits beobachtete Veränderungen wie ein Emphysem oder Milchglastrübungen waren nicht gehäuft nachweisbar.

Lungenfunktionell wiesen RB-ILD-Patienten eine überwiegend obstruktive Ventilationsstörung auf sowie im Gegensatz zu den Sarkoidose-Patienten und Gesunden eine erniedrigte Diffusionskapazität (70% des Sollwerts). Die Diffusionskapazität korrelierte jedoch nicht mit dem Schweregrad der Erkrankung.

Schlussfolgerung: Im Rahmen einer RB-ILD kommt es neben der Vermehrung der Pigmentmakrophagen und der CD8⁺T-Lymphozyten zu einer Expansion weiterer Zellen wie den NKT-Zellen, den B-Zellen, den CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten sowie den CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten. Das Zellmuster lässt auf eine spezifische mit der RB-ILD-assoziierte Entzündung schließen, wobei Zellen sowohl des angeborenen als auch des erworbenen spezifischen Immunsystems beteiligt sind. Somit könnte es sich bei der RB-ILD um eine eigenständige Manifestationsform der COPD handeln. Die Expansion der regulatorischen CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten deutet ferner auf die Möglichkeit einer autoimmunologischen Komponente der Entzündung hin. Die Erhöhung der Pigmentmakrophagen kann hingegen in erster Linie lediglich Hinweise auf den aktuellen Rauchkonsum liefern. Die Ergebnisse legen ferner nahe, dass sich eine RB-ILD mittels BAL-Differential- und Immunzytologie diagnostizieren lässt.

3 Einleitung

3.1 Raucherassoziierte interstitielle Lungenerkrankungen

3.1.1 Klassifikation

Seit vielen Jahren ist bekannt, dass Rauchen einer der Hauptursachen für COPD und das Bronchialkarzinom ist sowie einen bedeutenden Risikofaktor für Herz-Kreislauf-Erkrankungen darstellt. In den letzten Jahren wurde deutlich, dass das Rauchen auch andere respiratorische Erkrankungen insbesondere interstitielle Lungenerkrankungen verursachen kann (Margaritopoulos et al. 2016).

Interstitielle Lungenerkrankungen per se sind chronisch verlaufende Entzündungen des Lungeninterstitiums mit Einbeziehung der alveolo-kapillären Membranen (Herold 2014).

Sie werden nach Vassallo et al. in vier Gruppen unterteilt:

Tabelle 1: Einteilung der raucherassoziierten interstitiellen Lungenerkrankungen (ILDs) (Vassallo und Ryu 2012)

1) Chronische ILDs stark mit Zigarettenrauch assoziiert	<ul style="list-style-type: none">• Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung• Desquamative Interstitielle Pneumonie• Langerhans-Zell-Histiozytose
2) Akute ILDs mit Zigarettenrauch assoziiert	<ul style="list-style-type: none">• Akute eosinophile Pneumonie• Pulmonales hämorrhagisches Syndrom
3) ILDs, deren Prävalenz bei Rauchern erhöht ist	<ul style="list-style-type: none">• Idiopathische pulmonale Fibrose• Rheumatoide-Arthritis assoziierte ILD
4) ILDs, die bei Rauchern eine geringe Prävalenz aufweisen	<ul style="list-style-type: none">• Sarkoidose• Hypersensitivitätspneumonitis

Die geringere Prävalenz der zu Gruppe 4 zählenden Erkrankungen bei Rauchern lässt sich möglicherweise durch eine Suppression der T-Helfer-(TH1)-Zellen aufgrund des Zigarettenrauchs erklären. Allerdings ist insbesondere bei der Sarkoidose - auch aufgrund anderer funktioneller Schäden im Immunsystem - die Prognose bei bereits bestehender Erkrankung bei Rauchern schlechter als bei Nichtrauchern (Peros-Golubic und Ljubic 1995).

3.1.2 Pathogenese

Die Ursachen für interstitielle Lungenerkrankungen umfassen neben Zigarettenrauch Chemikalien, organische Stäube oder Noxen, Infektionen, Medikamente, Kollagenosen und andere Erkrankungen (Devakonda et al. 2010). Interstitielle Lungenerkrankungen treten nicht selten auch ohne erkennbare Ursache auf (idiopathische Formen).

Im Falle der raucherassoziierten ILDs geht man davon aus, dass Zigarettenrauch gemeinsam mit einer genetischen Prädisposition zu einer Ansammlung von Entzündungszellen wie Makrophagen, Neutrophilen und Langerhans-Zellen in den kleinen Atemwegen und im Interstitium der Lunge führt. Dieser Prozess lässt sich aufgrund einer abnormalen Produktion von Wachstumsfaktoren wie dem Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulationsfaktor (GM-CSF) erklären, die zu einer verminderten Apoptose dieser Zellen führen (Remy-Jardin et al. 1993b). Laut Prasse et al. findet man bei den interstitiellen Lungenerkrankungen außerdem eine Erhöhung des Glykoproteins Osteopontin, welches die chemotaktische Verteilung der Immunzellen zusätzlich begünstigt (Prasse et al. 2009).

Die beim Rauchen von Zigaretten freigesetzten Produkte induzieren die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, die eine Zellschädigung in der Lunge vermitteln. Die damit einhergehende Produktion des Transforming Growth Factors (TGF-beta) führt zu einer gesteigerten Kollagensynthese und dadurch zu einem fibrotischen Umbau der Lunge (Jensen et al. 2012). Dieses Phänomen wird vor allem bei der idiopathischen pulmonalen Fibrose (IPF) beobachtet. Des Weiteren kann Zigarettenrauch eine Dysregulation der Autophagie von Zelle bedingen. Ein Beispiel hierfür ist die COPD. Physiologisch führt die Autophagie zum Zelltod beschädigter Zellen und zu deren Abtransport. Bei einer Dysregulation ist die Autophagie in Epithelzellen der Lunge zum einen erhöht, was zu einer vermehrten Apoptose dieser Zellen und letztendlich zu einem Emphysem führt, während zum anderen eine verminderte Autophagie in Makrophagen zu deren Akkumulation, zu einer gesteigerten Bildung von Sauerstoffradikalen und zu einer Verschlechterung der Erkrankung führen kann (Margaritopoulos et al. 2013).

Auch Anti-Citrullinierte-Protein-Antikörper (ACPAs), welche einen Trigger für Autoimmunerkrankungen wie die rheumatoide Arthritis darstellen, werden durch das Rauchen vermehrt gebildet und sind mit pathologischen Lungenveränderungen assoziiert (Klareskog et al. 2006, Fischer et al. 2012).

Zigarettenrauch beschleunigt das Altern der Lunge. Dieser Alterungsprozess ist gekennzeichnet durch Zellseneszenz, oxidativen Stress und dadurch bedingte DNA Schäden sowie Telomerverkürzung, welche zur Instabilität der Chromosomen sowie zum frühzeitigen Zelltod

führt (Lopez-Otin et al. 2013). Auch nach Nikotinkarenz sind bei ehemaligen Rauchern epigenetische Veränderungen in der DNA wie Promotorhypermethylierungen sowie Ungleichgewichte bei der Acetylierung bzw. Deacetylierung der Histone nachweisbar. Diese sind vermutlich an der Entstehung von entzündlichen Lungenerkrankungen beteiligt (Barnes et al. 2005, Yang et al. 2006).

Raucherassoziierte Lungenerkrankungen können histologisch mit Lungenveränderungen wie z.B. einer Fibrose oder einem Emphysem einhergehen. Diese sind allerdings in der Bildgebung selbst im HRCT häufig im frühen Erkrankungsstadium noch nicht zu erkennen (Myers et al. 1987).

3.2 Bronchiolitiden

3.2.1 Definition

Unter einer Bronchiolitis versteht man generell eine mit Husten und Dyspnoe einhergehende, entzündliche, potentiell fibrosierende Erkrankung der peripheren luftleitenden kleinen Atemwege (Bronchioli: <2 mm im Durchmesser) unterschiedlichster Ätiologie (King 1993, Papiris et al. 2013, Ryu et al. 2005).

Die Präsentation und der klinische Verlauf einer Bronchiolitis variiert in Abhängigkeit von Ursache sowie Typ und reicht von einer restitutio ad integrum bis zu chronisch progressiven Formen mit terminaler respiratorischer Insuffizienz (Kroegel und Costabel 2016).

3.2.2 Respiratorische Bronchiolitis (RB)

Die Respiratorische Bronchiolitis stellt ein häufiges asymptomatisches, histologisches Korrelat dar, das sich durch eine erhöhte Anzahl an Makrophagen mit gelb-braun granulierten zytoplasmatischen Pigmenten insbesondere in den respiratorischen Bronchiolen auszeichnet und stellt somit den sensitivsten und spezifischsten Marker für Zigarettenrauch dar (Caminati et al. 2012, Fraig et al. 2002). Vermutlich sind fast alle Raucher – wenn auch in unterschiedlicher Ausprägung – von dieser Krankheit betroffen (Niewoehner et al. 1974). Laut Fraig et al. kann man aber zum Teil auch bei ehemaligen Rauchern das histologische Muster einer Respiratorischen Bronchiolitis erkennen (Fraig et al. 2002). Die Respiratorische Bronchiolitis zählt somit zu den häufigsten Bronchiolitiden (Goeckenjan 2003). Außerdem wird sie häufig zum Krankheitsspektrum der COPD gezählt (Beasley 2010).

3.2.3 Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung (RB-ILD)

3.2.3.1 Definition

Von einer RB-assoziierten Interstitiellen Lungenerkrankung (RB-ILD) spricht man hingegen, wenn Raucher zu einer bestehenden Respiratorischen Bronchiolitis zusätzlich Symptome einer interstitiellen bzw. bronchiolitischen Entzündung oder eine Verschlechterung der Lungenfunktion aufweisen. Des Weiteren imponieren die Veränderungen im HRCT bei der RB-ILD deutlicher als bei der RB (Abbildung 1) (Wells et al. 2007). Die RB-ILD wird auch als ausgeprägtere Form der RB mit betonter peribronchiolärer interstitieller Fibrose betrachtet, welche sich sternförmig in der Lunge ausbreitet. Eine progrediente manifeste Lungenfibrose entwickelt sich allerdings auch im Rahmen einer RB-ILD normalerweise nicht (Craig et al. 2004). Eine histologische Unterscheidung zwischen RB und RB-ILD ist häufig nicht möglich. (Myers et al. 1987). Aus einer RB entwickelt sich nur selten eine RB-ILD (Fraig et al. 2002). Genauso wie die RB tritt die RB-ILD nahezu ausschließlich bei Rauchern auf und zeichnet sich insbesondere durch das Vorkommen von Pigmentmakrophagen aus. Die RB-ILD zeigt zum Teil nur eine geringe Symptomatik, weshalb sie häufig einen Zufallsbefund bei jungen, ansonsten gesunden Rauchern darstellt (Niewoehner et al. 1974). Das Erkrankungsalter liegt zwischen 30 und 60 Jahren (Portnoy et al. 2007, Ryu et al. 2005, Park et al. 2002).

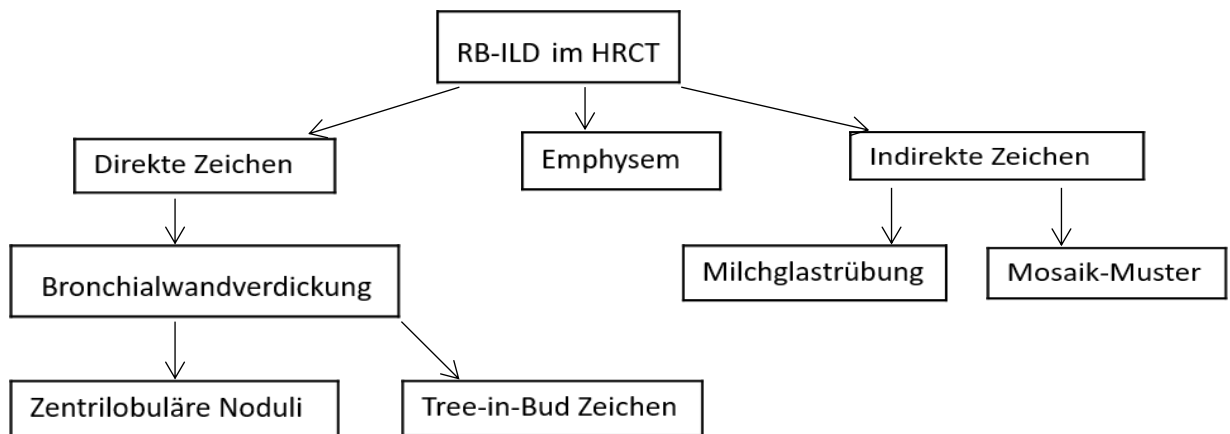


Abbildung 1: Computertomographische Veränderungen bei RB-ILD (Respiratorischer Bronchiolitis-Interstitieller Lungenerkrankung) (modifiziert nach Kroegel et al. 2012)

3.2.3.2 Pathogenese

Die Pathogenese der raucherassoziierten Erkrankungen, insbesondere der RB-ILD, ist bis dato größtenteils ungeklärt. Ein wesentliches Merkmal der RB-ILD ist die Ansammlung pigmentierter Makrophagen in den kleinen Atemwegen und dem angrenzenden Interstitium als Folge des oft langjährigen ehemaligen oder fortbestehenden Nikotinabusus. Vorausgegangene Studien geben Hinweise darauf, dass die durch Rauch stimulierten Alveolarmakrophagen chemotaktische Substanzen, Zytokine und Proteasen produzieren, die zu der bereits genannten entzündlichen Immunreaktion führen (Barnes 2014, Caramori et al. 2011, Hogg und Timens 2009).

Eine weitere Hypothese besagt, dass diese makrophageninduzierte Bronchiolitis ein Vorläufer des Lungenemphysems darstellen könnte (Niewoehner et al. 1974, Remy-Jardin et al. 2002). Laut einer Studie von Park et al. besteht eine Korrelation zwischen dem Pigmentierungsgrad der Zellen, dem Ausmaß einer chronischen Bronchitis sowie der bei den Patienten im hochauflösenden CT (HRCT) sichtbaren zentrilobulären Noduli und Milchglastrübungen (Park et al. 2002).

3.2.3.3 Differentialdiagnosen

Zu den Differentialdiagnosen der RB-ILD zählen die ebenfalls mit Zigarettenrauch assoziierten interstitiellen Lungenerkrankungen Desquamative Interstitielle Pneumonie (DIP), pulmonale Langerhans-Zell-Histiozytose (PLCH), Idiopathisch pulmonale Lungenfibrose sowie andere interstitielle Lungenerkrankungen (vor allem Sarkoidose, Alveolitis, Pneumokoniosen usw.) (Caminati et al. 2012).

Die Desquamative Interstitielle Pneumonie (DIP) wird wie die RB/RB-ILD den idiopathischen interstitiellen Pneumonien (IIPs) zugeordnet (Travis et al. 2013). Sie kommt allerdings - im Gegensatz zur RB/RB-ILD - nicht nahezu ausschließlich bei Rauchern vor, sondern kann auch als reaktives Phänomen im Rahmen anderer Erkrankungen auftreten (Yousem et al. 1989). Bei der DIP sind die Makrophagen deutlich diffuser verteilt und nicht zentrilobulär begrenzt, sondern betreffen meist den ganzen Lobulus. Des Weiteren finden sich histologisch eine vermehrte interstitielle Fibrose, eosinophile Granulozyten, Riesenzellen, Lymphfollikel sowie beidseitig radiologisch sehr ausgeprägte basale Milchglastrübungen, welche die akkumulierenden Makrophagen widerspiegeln (Heyneman et al. 1999, Tazelaar et al. 2011). Auch Trommelschlegelfinger werden bei der DIP häufiger als bei der RB-ILD beobachtet (Caminati et al. 2012).

RB, RB-ILD und DIP überlappen sich im klinischen, radiologischen und histologischen Bereich und zeigen unterschiedliche Schweregrade desselben pathogenen Prozesses (Tabelle 2) (Heyneman et al. 1999).

Bei der ebenfalls makrophagenassoziierten pulmonalen Langerhans-Zell-Histiozytose (PLCH) konnte eine häufige radiologisch-histopathologische Koexistenz in Bezug auf die RB-ILD/DIP gezeigt werden (Vassallo et al. 2003). Bei dieser Erkrankung führen - ähnlich wie bei der RB-ILD - Antigene im Tabakrauch zur Aktivierung von Alveolarmakrophagen und zur Zytokinfreisetzung. In Folge dessen kommt es allerdings - im Gegensatz zur RB-ILD - zusätzlich zur Rekrutierung von Langerhans-Zellen (Schonfeld 2003). Diese wiederum exprimieren immunhistochemische Marker wie S100 oder CD1a, deren Nachweis die Diagnose bei Verdacht auf eine pulmonale Langerhans-Zell-Histiozytose erhärten kann (Harms und Muller 2001). Im Frühstadium der Erkrankung dominieren zentrilobuläre Mikronoduli, während in fortgeschrittenem Stadium vermehrt Zysten auftreten können, welche typischerweise die Lungenbasis aussparen (Margaritopoulos et al. 2016). Die bei der DIP und RB-ILD in der klinischen Untersuchung festgestellte Sklerophonie fehlt meist (Caminati et al. 2012). Zudem besteht bei dieser Erkrankung eine gehäufte Assoziation mit Neoplasien (Lombard et al. 1987). Aufgrund einer systematischen Komponente kann die Lebenserwartung reduziert sein (Chaowalit et al. 2004).

Tabelle 2: Vergleich RB-ILD (Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung) mit DIP (Desquamative Interstitielle Pneumonie) und PLCH (Pulmonale Langerhans-Zell-Histiozytose)

	RB-ILD	DIP	PLCH
Raucher	>99%	Häufig	Sehr häufig
Lungenfunktion	Gemischt restriktiv-obstruktiv oder unauffällig	restriktiv	Gemischt restriktiv-obstruktiv
Bildgebung	Zentrilobuläre Noduli, Milchglastrübung, Mosaikmuster, Emphysem	Milchglastrübung (vor allem basal)	Zentrilobuläre Mikronoduli (Oberlappen-betont), Bronchiektasien, Zysten, Fibrose
Histologie	Zentrilobuläre Alveolarmakrophagen sowie peribronchioläre Entzündung	Diffus verteilte Alveolarmakrophagen sowie interstitielle Fibrose	Langerhans-Zell-Granulome, Alveolarmakrophagen sowie Fibrose, Emphysem mit Pneumothorax

3.2.3.4 Therapie und Prognose

Über die therapeutischen Optionen bei der RB-ILD ist nur wenig bekannt. Eine strikte Nikotinkarenz kann die Progression der Erkrankung verlangsamen. In einer Studie von Nakanishi et. al konnte gezeigt werden, dass insbesondere die Diffusionskapazität in der Lungenfunktion sowie die Befunde im HRCT (zentrilobuläre Noduli/Milchglasstrübungen) durch den Rauchverzicht gebessert werden können (Nakanishi et al. 2007).

Große randomisierte und kontrollierte Studien zur medikamentösen Therapie fehlen allerdings und die Empfehlungen bezüglich der Therapie sind empirisch und beruhen auf Einzelbeobachtungen (Devakonda et al. 2010, Kroegel und Costabel 2014, Burgel et al. 2013). Grundsätzlich beruht die medikamentöse Behandlung der Bronchiolitiden derzeit auf zwei Zugängen:

- anti-entzündlich (v.a. inhalative bzw. orale Kortikosteroide)
- anti-obstruktiv (Beta-2-Mimetika)

Während die inhalative anti-entzündliche Therapie immer durchgeführt wird, besteht die Indikation zur anti-obstruktiven Therapie mit langwirksamen anti-obstruktiven Medikamenten nur bei Vorhandensein einer Atemwegsobstruktion (Kroegel und Costabel 2016).

Obwohl es bis jetzt keine einheitlich wirksame Therapie gibt, besitzt die Erkrankung insgesamt eine gute Prognose mit annähernd normaler Lebenserwartung. Eine persistierende Symptomatik sowie eine Progression der Erkrankung sind aber trotz Therapie möglich (Goeckenjan 2003, Portnoy et al. 2007), selbst wenn der Rauchkonsum eingestellt wurde (Wells et al. 2007).

4 Fragestellung

In den letzten Jahren haben sich die Kenntnisse zur Diagnostik von raucherassoziierten Erkrankungen verbessert. Dies beruht vor allem auf der Verfügbarkeit der hochauflösenden Computertomographie (HRCT), mit der sich die Lungenstrukturen bis auf die Ebene der kleinen Atemwege darstellen lassen. Hierdurch werden Bronchiolitiden in der klinischen Praxis identifizierbar bzw. diagnostizierbar.

Neben dem klinischen Aspekt findet sich auch zunehmendes wissenschaftliches Interesse für Erkrankungen der kleinen Atemwege im Hinblick auf Ursachen und die zugrunde liegenden pathogenetischen Prozesse.

Eine Bronchiolitis geht auf verschiedenste Ursachen zurück, wobei Rauchen als eine der häufigsten gilt. Eine raucherassoziierte Erkrankung der kleinen Atemwege stellt die Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung (RB-ILD) dar. Dabei ist noch unklar, ob es sich bei der RB-ILD lediglich um eine weitere Manifestation der COPD handelt oder um eine solitäre Erkrankung. Es ist ferner unklar, wie sich die RB-ILD in der bronchoalveolären Lavage mit Differential- und Immunzytologie darstellt. Zwar sind Rauchermakrophagen bei Rauchern regelmäßig anzutreffen, jedoch findet sich zumindest nach den Kriterien der Bildgebung nicht bei allen Rauchern eine RB-ILD.

Daher sollen in der hier vorgelegten Arbeit anhand der Analyse bronchoalveolärer Zellen Aspekte zum zugrunde liegenden Pathomechanismus sowie zur Diagnostik der RB-ILD untersucht werden.

Dabei geht es im Einzelnen um folgende Fragen:

1. Gehen die radiologischen Veränderungen einer RB-ILD mit entzündlichen Veränderungen des Bronchoalveolarraumes einher?
2. Sofern das der Fall ist, lässt sich mittels der BAL-Differential- und Immunzytologie ein definiertes bronchoalveoläres Zellmuster erkennen?
3. Zeigen sich im Hinblick auf das BAL-Zellmuster, die Lungenfunktion und die Bildgebung Unterschiede zwischen histologisch-gesicherter und nach klinischen Kriterien diagnostizierter, nicht histologisch-gesicherter RB-ILD?
4. Welche Bedeutung haben die Pigmentmakrophagen für die RB-ILD und inwieweit korreliert ihre Anzahl mit anderen krankheitsspezifischen Veränderungen?
5. Lassen sich aus dem zellulären Muster Rückschlüsse auf die der Bronchiolitis zugrunde liegenden pathogenetischen Vorgänge ziehen?
6. Korrespondiert das zelluläre BAL-Muster mit der Lungenfunktion?
7. Lassen sich aus dem Zellmuster in der BAL Rückschlüsse auf die Beziehung der RB-ILD

mit anderen raucherassoziierten Erkrankungen (COPD, Emphysem) ziehen?

8. Ergeben sich aufgrund der zellulären Verteilung möglicherweise Hinweise, die zur Diagnose der RB-ILD mittels BAL-Differential- und Immunzytologie herangezogen werden können?

5 Material und Methoden

5.1 Patienten

Für die vorliegende Arbeit werden retrospektive Daten von 43 Personen herangezogen, bei denen - aufgrund von Symptomen, die auf das Vorliegen einer interstitiellen Lungenerkrankung hinwiesen - in den Jahren 2002 bis 2015 eine bronchoalveoläre Lavage (BAL) in der Pneumologischen Abteilung der Universitätsklinik Jena durch Prof. Dr. Dr. C. Kroegel durchgeführt wurde. Diese diente neben der Diagnosefindung in erster Linie der differentialdiagnostischen Abgrenzung zu anderen Lungenerkrankungen.

Zur Sicherung der Diagnose erfolgte bei den Patienten, bei denen sich aufgrund der BAL der Verdacht auf eine RB-ILD (siehe Abschnitt 5.2.4) bzw. Sarkoidose erhärtete, zudem zeitnah eine konventionelle Röntgenaufnahme bzw. ein HRCT des Thorax, eine Lungenfunktionsdiagnostik sowie die Anfertigung eines Differentialblutbilds. Des Weiteren wurde eine transbronchiale Biopsie für histologische Zwecke im Rahmen einer Bronchoskopie durchgeführt.

Nach der Durchsichtung aller Befunde werden insgesamt 21 Patienten mit eindeutiger Diagnose einer RB-ILD (siehe Abschnitt 5.1.1) in die Studie eingeschlossen und in zwei Gruppen unterteilt – eine, bei der die Diagnose RB-ILD histologisch gesichert werden konnte (siehe Abschnitt 5.2.5) und eine, wo dies nicht möglich war. Ein- und Ausschlusskriterien werden anhand bisheriger Forschungsergebnisse definiert (siehe Abschnitt 5.1.1).

Es werden neben den beiden Gruppen mit histologisch-gesicherter sowie nicht histologisch-gesicherter RB-ILD zwei weitere Studienpopulationen als Vergleichsgruppen herangezogen.

Eine Gruppe besteht aus 10 Patienten mit Sarkoidose – eine Erkrankung, die im Gegensatz zur RB-ILD bei Rauchern eine erniedrigte Prävalenz hat. Die Diagnose beruhte auf dem histologischen Nachweis von nicht-verkäsenden Granulomen mit Langerhans-Riesenzellen sowie dem Vorhandensein einer hilären Lymphadenopathie, einer erhöhten ACE (Angiotensin-Converting-Enzym) Konzentration, einer erhöhten Konzentration des löslichen IL-2-Rezeptors im Serum oder eines erhöhten CD4/CD8-Quotient (>5) in der BAL.

Eine weitere Vergleichsgruppe besteht aus 12 gesunden Personen. Hierbei handelt es sich um Personen, die zur Abklärung einer medizinischen Fragestellung eine BAL erhielten, bei denen jedoch alle durchgeführten Untersuchungen zu keinem organspezifischen Befund führten.

Sowohl die Rekrutierung der Patienten mit Sarkoidose als auch die der gesunden Kontrollgruppe erfolgte im Jahr 2002-2015 bzw. 2003 durch die pneumologische Arbeitsgruppe des Universitätsklinikums Jena um Prof. Dr. Dr. C. Kroegel und Dr. M. Förster im Hinblick auf

die Differenzierung verschiedener Lungenerkrankungen wie Asthma bronchiale, COPD und Sarkoidose anhand Zellveränderungen in der BAL sowie deren Vergleich mit gesunden Kontrollen. Zur gesunden Kontrollgruppe lagen für diese Arbeit lediglich anamnestische Daten sowie Daten zu den Zellveränderungen in der BAL vor; jedoch nicht zum Blutbild und der Lungenfunktion. Es wurden auch keine HRCT-Bilder für diese Gruppe angefertigt.

5.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien für Patienten mit RB-ILD

Die Einschlusskriterien für Patienten mit RB-ILD sind:

- Zeichen einer Bronchiolitis im HRCT (siehe Abbildung 1)
- ein chronischer Zigarettenabusus ≥ 10 PY
- Symptome, die mit einer RB-ILD zu vereinbaren sind

Zu den Ausschlusskriterien für Patienten mit RB-ILD zählen:

- eine orale Kortisontherapie
- eine akute Infektionserkrankung
- eine Komorbidität, die die Differentialzytologie der BAL oder die Bildgebung des Thorax beeinflussen, wie beispielsweise schwere Herzerkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder andere Immundefekte, Bronchiektasien sowie der Hinweis auf eine allergische Erkrankung (z.B. Asthma)
- das Fehlen eines HRCTs der Lunge
- Nichtraucher

5.1.2 Alter, Geschlecht und Raucherstatus

Von den 21 Patienten mit RB-ILD sind 17 männlich und 4 weiblich. Die Erkrankung konnte bei 7 männlichen Patienten histologisch gesichert werden. Das mittlere Alter der gesamten RB-ILD-Patienten betrug zum Zeitpunkt der BAL 47 Jahre. Von den 21 Patienten waren zu diesem Zeitpunkt 19 aktuell Raucher und 2 ehemalige Raucher.

Von den 10 Patienten mit Sarkoidose sind jeweils 5 männlich und 5 weiblich. Das mediane Alter betrug 48 Jahre und die mediane Anzahl der Pack Years in dieser Gruppe lag bei 0.

Von den 12 gesunden Personen sind 7 männlich und 5 weiblich. Das mediane Alter betrug 25,5 Jahre und alle gesunden Personen waren Nichtraucher (Tabelle 3).

Tabelle 3: Alter, Geschlecht und Anzahl der mittleren Packungsjahre bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildungen 4-6)

	Anzahl der rekrutierten Patienten (=n)	Mittleres Alter in Jahren	Geschlecht (männlich/weiblich)	Mittlere Packungsjahre
RB-ILD gesamt	21	47	(17/4)	30
RB-ILD nicht histologisch-gesichert	14	44,5	(10/4)	27,5
RB-ILD histologisch-gesichert	7	50	(7/0)	30
Sarkoidose	10	48	(5/5)	0
Gesunde	12	25,5	(7/5)	0

5.2 Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf RB-ILD

Die Diagnose bei Verdacht auf Vorliegen einer RB-ILD beruht auf der integrierten Bewertung der Anamnese, Bildgebung, Lungenfunktion und der histologischen Sicherung in vier Stufen (Abbildung 2).

Die Diagnosestellung beruht auf einer integrierten Beurteilung von Befunden und Symptomen mit differentialdiagnostischer Abgrenzung zu anderen Lungenerkrankungen.

Stufe 1 – Anamnese und körperlicher Befund
Stufe 2 – Röntgenthorax und Lungenfunktion
Stufe 3 – Hochauflösendes CT (HRCT)
Stufe 4 – Zytologische/Histologische Diagnostik erwägen

Abbildung 2: Diagnostischer Algorithmus bei Verdacht auf Bronchiolitis (Kroegel et al. 2012a)

5.2.1 Anamnese und Klinik

Den wichtigsten Risikofaktor für die Entwicklung einer RB-ILD stellt das Rauchen dar. Dabei spielen insbesondere die Dauer und Intensität des Zigarettenabusus eine führende Rolle. Unspezifische Symptome der RB-ILD sind Dyspnoe sowie meist unproduktiver Husten. Meist verläuft die Erkrankung schleichend. Schwere respiratorische Insuffizienz mit Hypoxämie tritt nur bei einer ausgeprägten ILD auf (Travis et al. 2013). Das klinische Bild der RB-ILD kann

allerdings durch das Vorliegen einer raucherassoziierten chronischen Bronchitis und/oder eines Emphysems überdeckt werden (Goeckenjan 2003).

Der klinische Untersuchungsbefund ist variabel und reicht von bilateralem endinspiratorischem basalem Knistern (Sklerophonie) bis hin zu trockenen Nebengeräuschen (Devakonda et al. 2010, Portnoy et al. 2007, Sieminska und Kuziemski 2014). Gehäufte pulmonale und systemische Infekte, Obstruktion mit hypersonorem Klopfeschall (sogenanntes Air Trapping) und Überblähung können oftmals auch auf eine RB-ILD hinweisen. Im Spätstadium kann es zu Trommelschlegelfingern kommen (Kroegel und Costabel 2016).

Die Anamnese insbesondere bezüglich der Symptomatik und des Raucherstatus wurde für diese Studie durch die Ärzte der pneumologischen Abteilung des Universitätsklinikum Jena vor Durchführung der BAL erhoben.

5.2.2 Lungenfunktion

Ausgeprägte lungenfunktionelle Veränderungen werden erst bei ausgedehnter Bronchiolitis nachweisbar (Cosio et al. 1978). Allerdings kann es bei der RB-ILD bereits frühzeitig zu einem Abfall der Diffusionskapazität kommen (Aubry et al. 2000, Myers et al. 1987).

Bei den besonders im distalen Azinus manifestierten interstitiellen Lungenerkrankungen wie bei der RB-ILD kann sich sowohl eine restriktive als auch obstruktive Lungenfunktionsstörung zeigen (Myers et al. 1987, Moon et al. 1999). Zudem ist die CO-Diffusionskapazität (DLCO/VA) häufig eingeschränkt (Portnoy et al. 2007).

In der vorliegenden Arbeit wird zur Charakterisierung der Lungenfunktion das forciert expiratorische Volumen (FEV1) und dessen Anteil an der Vitalkapazität (VC), das Residualvolumen (RV) und die totale Lungenkapazität (TLC) sowie die Diffusionskapazität (DLCO/VA) herangezogen. Dabei wird jeweils der Anteil (Ist-Wert) am Soll-Wert gemessen.

5.2.3 Radiologische Befunde

Bildgebende Verfahren zeigen bei RB-ILD-Patienten in 70-80 % einen pathologischen Befund (Aubry et al. 2000). Neben einer konventionellen Röntgenaufnahme spielt heutzutage vor allem das hochauflösende CT (HRCT) eine zentrale Rolle bei der Diagnostik der RB-ILD, da sich damit besonders die kleinen Atemwege darstellen lassen. Normale Bronchioli lassen sich beim Gesunden im HRCT aufgrund der geringen Wanddicke (~0,1 mm) ebenso wie die septalen Grenzen des sekundären Lobulus nicht darstellen (Aziz et al. 2004). Im Rahmen entzündlicher Prozesse mit Zellinfiltration und Ödem werden Bronchioli und die polygonale Struktur der

Lobuli bzw. die interlobulären Septen im HRCT sichtbar (Kroegel et al. 2012b). Bei der radiologischen Diagnostik ist insbesondere zu beachten, dass häufig Koexistenzen bzw. Transformationen innerhalb der verschiedenen interstitiellen Lungenerkrankungen vorliegen (Marten 2007). Die radiologisch am schwierigsten abzugrenzende Differentialdiagnose zur RB-ILD ist neben der DIP die subakute Hypersensitivitätspneumonitis (exogene allergische Alveolitis), da das radiologische Bild dieser Erkrankungen nahezu identisch ist. Entscheidend ist hierbei die Anamnese, da bei der Hypersensitivitätspneumonitis andere Risikofaktoren eine Rolle spielen (Margaritopoulos et al. 2016).

Während die konventionelle Radiologie bei RB-ILD-Patienten typischerweise feine retikulonoduläre interstitielle Verdichtungen zeigt, sieht man im HRCT vor allem wandverdickte Bronchien sowie die für die RB-ILD typischen unscharf begrenzten diffusen zentrilobulären Noduli (Abbildung 1), deren Zahl mit dem Ausmaß der chronischen Entzündung korreliert (Park et al. 2002). Seltener finden sich auch V- oder Y-förmige Aufzweigungen verbunden mit einer Ansammlung zentrilobulärer Verdichtungen, was als Tree-in-Bud-Zeichen („Blütenzeichen“) bezeichnet wird. Dieses beruht auf einer entzündlich bedingten Verdickung der bronchiolären Wand, dem Vorhandensein von Mukusausgüssen sowie der daraus resultierenden Obstruktion der Atemwege (Devakonda et al. 2010, Kroegel et al. 2012b).

Ein weiterer radiologischer Hinweis für das Vorliegen einer Bronchiolitis kann ein Mosaikmuster (vor allem im Unterlappen) sein. Dabei finden sich multiple lokal überblähte Lungenabschnitte (lokales „Air trapping“), die sich im CT hypodens darstellen, neben normal ventilerten Bereichen. Die nebeneinander vorkommenden Lungenareale weisen eine unterschiedliche Dichte auf, die auf Perfusionsunterschieden infolge hypoxischer Vasokonstriktion beruhen. Das Mosaikmuster lässt sich besonders gut bei maximaler Expiration darstellen (Kroegel und Costabel 2016).

Des Weiteren sind Milchglastrübungen möglich. Sie sind Ausdruck einer Akkumulation von Alveolarmakrophagen und anderen Entzündungszellen oder stellen eine unterschiedlich ausgeprägte feine interstitielle Fibrose dar (Remy-Jardin et al. 1993a).

Auch ein häufig im Oberlappen lokalisiertes zentrilobuläres Emphysem wurde bei der RB-ILD beobachtet (Park et al. 2002).

Das HRCT eignet sich neben der Diagnostik auch hervorragend zur morphologischen Verlaufsbeobachtung bei interstitiellen Lungenerkrankungen (Marten 2007).

Das HRCT wurde in der vorgelegten Arbeit befundet im Hinblick auf das Vorliegen eines Emphysems, eines Mosaikmusters, zentrilobulärer Noduli, einer Lymphadenopathie sowie

anderer Lungengerüstveränderungen. Die primäre Befundung erfolgte durch die radiologische Abteilung der Universitätsklinik Jena. Eine weitere Befundung insbesondere im Hinblick auf o.g. Kriterien erfolgte durch Prof. Dr. Dr. Kroegel.

5.2.4 Bronchoskopie/BAL

Die Bronchoskopie kann bei RB-ILD-Patienten unauffällig sein, aber auch Anzeichen einer chronischen Bronchitis aufweisen. Die BAL allein genügt nicht zur endgültigen Diagnosestellung, ist aber hilfreich für die differenzialdiagnostische Abgrenzung zu anderen Lungenerkrankungen (Caminati et al. 2012).

Bereits die Lavageflüssigkeit (BALF) lässt makroskopisch mit ihrer gelb-bräunlichen („schmutzigen“) Farbe aufgrund des hohen Gehalts an pigmentierten Makrophagen schnell an eine RB-ILD denken (Goeckenjan 2003). Neben einer erhöhten Gesamtzellzahl ($>25 \times 10^6/\text{ml}$) zeigt die Differentialzytologie der BAL vor allem bei aktiven Rauchern Pigmentmakrophagen, deren physiologischer Anteil bei $<3\%$ liegt (Abbildung 3) (Kroegel und Costabel 2014).

Andere Zellveränderungen sind bisher nicht bekannt.

In der vorliegenden Arbeit wird neben den Pigmentmakrophagen der relative Anteil der NKT-Zellen ($\text{CD}16/56/\text{CD}3^+$ - Zellen, welche eine Subgruppe von Lymphozyten bilden, die sowohl T-Zell- als auch NK-Zell-Eigenschaften vereinen) in der BAL untersucht. Diese Zellen stellen eine primär unspezifische Entzündungsreaktion des angeborenen Immunsystems dar. Zudem werden NK-Zellen ($\text{CD}16/56/\text{CD}45^+$ - Zellen), B-Zellen, $\text{CD}4^+\text{CD}25^-$, $\text{CD}3^-$, $\text{CD}4^-$, $\text{CD}8^-$ und $\text{CD}4^+\text{CD}103^-$ T-Lymphozyten sowie der $\text{CD}4^+/\text{CD}8^+$ -Quotient in der BAL bei den jeweiligen Patientengruppen untersucht. Vor allem Letztere sind Zellen des erworbenen Immunsystems. Die Bronchoskopie mit BAL wurde hierbei durch Prof. Dr. Dr. Kroegel durchgeführt.

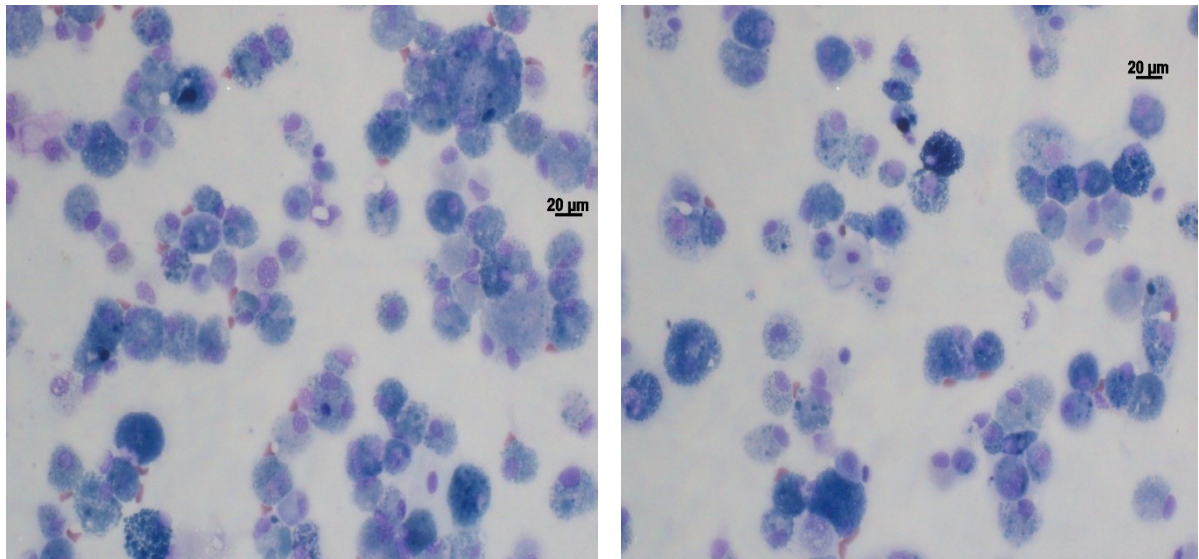


Abbildung 3: Gefärbter Zytospin zweier Patienten mit RB-ILD mit Pigment-beladenen Makrophagen (dunkelblau) und kleineren Lymphozyten (hellblau). In der linken Abbildung oben erkennt man eine mehrkernige Riesenzelle.

May-Grünwald-Färbung, x200

5.2.5 Histologische Befunde

Zur Diagnosestellung ist eine bioptische Sicherung nur in Einzelfällen erforderlich und sollte - wenn nötig - als Kryobiopsie oder offene Lungenbiopsie (im Rahmen einer VATS) erfolgen (Devakonda et al. 2010).

Bei aktiven Rauchern ist vor allem die intra- und peribronchioläre Akkumulation von Makrophagen mit Fe(Eisen)-negativen Einschlüssen (Raucher-Makrophagen) ein wichtiger Hinweis auf das aktive Rauchen (Kroegel et al. 2012a). Die braune Pigmentierung der Makrophagen ist vor allem bei Rauchern zu sehen, während sich durch Staub verursachte Lungenerkrankungen eher durch Makrophagen mit homogenem eosinophilem Zytoplasma sowie Staubpartikeln ohne dunkle Pigmentierung auszeichnen (Wells et al. 2007). Bei der RB-ILD findet sich in der transbronchialen Biopsie außerdem häufig eine moderate interstitielle bzw. peribronchioläre Entzündung mit Lymphozyten und Histiozyten (Sieminska und Kuziemski 2014). Für diese Dissertation wurden die histologischen Veränderungen innerhalb der einzelnen Krankheitsbilder durch das pathologische Institut der Universitätsklinik Jena analysiert.

5.2.6 Blutbild

In der hier vorliegenden Arbeit werden zusätzlich das Blutbild im Hinblick auf die Anzahl der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten sowie den relativen Anteil der Lymphozyten

sowie der neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten an den Gesamtleukozyten in den einzelnen Patientengruppen analysiert, um mögliche Unterschiede zwischen der RB-ILD und der Sarkoidose darzustellen. Hierfür wird der Median verwendet. Die Normbereiche für die einzelnen Zellreihen werden wie folgt angegeben:

- Leukozyten: 4,4 - 11,3 Gpt/l,
- Erythrozyten: 4,5 - 5,9 Tpt/l,
- Thrombozyten: 150 - 360 Gpt/l,
- Lymphozyten: 18 - 50%,
- Neutrophile: 35 - 75%,
- Eosinophile: < 7%,
- Basophile: < 1%.

5.3 Bronchoalveoläre Lavage (BAL) im Rahmen der Bronchoskopie

5.3.1 Definition

Unter der Bronchoskopie versteht man die diagnostische oder therapeutische Untersuchung der Atemwege und des Lungenparenchyms mittels starrem oder flexiblem Bronchoskop bei definierten Fragestellungen. Die Bronchoskopie gilt heute als zentrale Technik zur Früherkennung und Diagnostik pulmonaler Erkrankungen ebenso wie zur wissenschaftlichen Charakterisierung interstitieller Lungenerkrankungen (Kroegel und Costabel 2014).

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) wird im Rahmen der Bronchoskopie durchgeführt. Sie dient in erster Linie der Differential- und Immunzytologie bronchoalveolärer Zellen.

Hierbei werden 100 - 300 ml vorgewärmte 0,9%ige Kochsalzlösung in 20 ml Fraktionen mit Hilfe eines Lavage-Katheters im Arbeitskanal des Bronchoskops in ein Sub- oder Subsubsegment instilliert. Nach der anatomischen Lage und Größe sowie dem endoskopischen Zugang werden hierfür vorzugsweise die Mittelappensegmente (S4 oder S5), Segmente 3 und 8 rechts sowie links S8 oder die Lingula-Segmente S4 und S5 gewählt. Jede in den Bronchoalveolarraum instillierte 20 ml-Fraktion wird unmittelbar anschließend aspiriert (Kroegel 2014). Durch Konvektion sowie durch aufsteigende kleine Bläschen der alveolären Luft werden bronchoalveoläre Zellen in der zurückgewonnenen Lavage-Flüssigkeit suspendiert. Auf diese Weise erhält man Zellen aus den Alveolen und dem Lumen der Bronchiolen bzw. der peripheren Atemwege.

Die Dominanz der hierbei gewonnenen bronchoalveolären versus bronchialen Zellen beruht auf der nach peripher exponentiell zunehmenden Atemwegsoberfläche. In einer Annäherung

werden bei einer Alveolenzahl in der gesunden Lunge von 300×10^6 auf diese Weise unter Berücksichtigung von 42 Subsegmenten (22 rechts, 20 links) $7,14 \times 10^6$ Alveolen erreicht. Bei einer gesamten Alveolaroberfläche der Lunge von im Mittel 100 m^2 entspricht das einer lavagierten Alveolaroberfläche von ca. $1,66 \text{ m}^2$.

Aufgrund des differentialzytologischen immunzytologischen Musters bronchoalveolärer Zellen lassen sich Rückschlüsse auf die zugrunde liegende Erkrankung ziehen. Typische Zellverteilungsmuster finden sich vor allem bei bestimmten interstitiellen Lungenerkrankungen, wie z.B. der Sarkoidose, der Exogenen allergischen Alveolitis oder mit Eosinophilen assoziierten Lungenerkrankungen (Kroegel und Costabel 2014).

Die Normbereiche für die einzelnen Zellen in der BAL sind nach Erkenntnissen der Pneumologie der Universitätsklinik Jena wie folgt:

- Pigmentmakrophagen: $<3\%$,
- NKT-Zellen: $<10\%$,
- NK-Zellen: $<10\%$,
- B-Zellen: $<2\%$,
- CD3^+ T-Lymphozyten: $<70\%$,
- CD4^+ T-Lymphozyten: $40\text{-}60\%$,
- CD8^+ T-Lymphozyten: $20\text{-}40\%$,
- $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ T-Lymphozyten: $<10\%$,
- $\text{CD4}^+\text{CD103}^+$ T-Lymphozyten: $<40\%$,
- $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ -Quotient: $1\text{-}3$.

Im Gegensatz zur diagnostischen Lavage wird bei der therapeutischen Lavage die Akkumulation von Proteinen und Mukus aus der Lunge entfernt. Diese Lavage-Technik kommt bei der Alveolarproteinose zur Anwendung.

5.3.2 Durchführung

Nach Prämedikation der Patienten und einer Lokalanästhesie des Rachens mit 2 %-igem Xylocain-Pumpspray wird die BAL in transnasaler bzw. in transoraler Technik durchgeführt. Die Lavage erfolgt vor weiteren diagnostischen Maßnahmen (z.B. Bürstenzytologie oder Biopsien), um eine Kontamination der BALF mit Blut zu vermeiden. Bei der BAL wird das Fiberbronchoskop in dem jeweils ausgewählten Segment bis zur 'wedge'-Position vorgeschoben. Dann erfolgt die Instillation von 20 ml-Fractionen angewärmter steriler physiologischer Kochsalzflüssigkeit (37°C) durch einen BAL-Katheter. Nach jeder Instillation

wird die Spülflüssigkeit wieder aspiriert. Im Mittel beträgt die zurückgewonnene Flüssigkeit etwa 50% (30-70ml) des Instillationsvolumens. Unmittelbar nach der Entnahme der BALF wird diese auf 4 Grad Celsius gekühlt und im Labor aufgearbeitet. Die Ergebnisse werden auf einem Befundbogen dokumentiert.

5.3.3 Aufarbeitung der BAL-Zellen

Makroskopische Beurteilung

Zunächst erfolgt die makroskopische Beurteilung im Hinblick auf Mukusbeschaffenheit und Farbe. Um die BALF von der Schleimbeimengung zu befreien, wird diese durch eine 4-lagige Mullgaze filtriert. Danach erfolgt die Volumenbestimmung der zurückgewonnenen BAL-Flüssigkeit.

Bestimmung der Zellzahl

Die BALF wird 10 Minuten lang bei 500 g zentrifugiert. Anschließend wird der Überstand abgesaugt und das Zellpellet in 1 ml Waschpuffer PBS/2% FCS (phosphate buffered saline und fetal calf serum) resuspendiert. Zur Bestimmung der Zellzahl werden nach Färbung mit Kimura-Lösung 10 Mikroliter der resuspendierten Zellen in einer Neubauer Zählkammer unter einem Lichtmikroskop ausgezählt (Anzahl der Zellen/16 Quadrate).

Bestimmung der Zellviabilität

Die Ermittlung der Viabilität der bronchoalveolären Zellen erfolgt mittels Propidiumjodid (PI). PI interkaliert zwischen den Basen von DNA und RNA. Es färben sich nur nicht-viable Zellen (PI-positiv). Die Fluoreszenzintensität der PI-Färbung ist ungefähr proportional zur Anzahl der Basenpaare. Der Anteil der PI-positiven und PI-negativen Zellen wird ermittelt.

Differenzialzytologie

Zur Bestimmung der Differentialzytologie werden die Zellen erneut mittels PBS/2% FCS gewaschen und auf die Zellzahl von 2×10^5 Zellen/ml eingestellt. Von der Zellsuspension werden 100 µl auf einen Objektträger gegeben und in einer Zentrifuge mit Zytospintechnik (800 U/10 min) auf dem Objektträger gleichmäßig verteilt (Shandon Cytospin 3). Nach dem Trocknen erfolgt die Färbung der Zellen mit May-Grünwald-Giemsa. Hiernach wird der Ausstrich im Hinblick auf nicht-zelluläre Strukturen (z.B. Charcot-Leyden-Kristalle, Asbestkörperchen usw.) untersucht. Schließlich werden die Zellen unter dem Lichtmikroskop

differenziert (100 Zellen).

Immunzytologie mittels FACS

Die immunzytologische Analyse der Oberflächenantigene erfolgt mittels Durchflusszytometrie (FACS: Fluorescence-activated cell sorting).

Die zu untersuchenden Lymphozyten (maximal 10^6 Zellen) werden mit Fluoreszenzfarbstoff markierten Antikörpern (FITC, PE, PE-Cy7, APC) inkubiert. Nach Waschen mit 2 ml PBS/2%FCS wird das Zellpellet in 300 µl PBS/2%FCS resuspendiert. Danach erfolgt die durchflusszytometrische Messung von jeweils 10000 Lymphozyten mit einem 4-Farbdurchflußzytometer (FACS Calibur, Becton-Dickinson, 2 Laser 488nm und 635nm). Zur Analyse mit Cell Quest Pro-Software werden die Zellen zunächst nach ihrem Streulichtverhalten getrennt. Im 'forward scatter' (FSC) und im 'side scatter' (SSC) können die Zellen anhand ihrer Größe und Granularität getrennt werden. Nach Selektion der Lymphozyten werden diese durch entsprechendes „Gating“ nach Subpopulationen (CD-Typen=Cluster of Differentiation) analysiert und als relative Werte (= jeweiliger Anteil an Gesamtlymphozyten) angegeben (Normwerte s. 5.3.1.).

5.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Berechnungen sowie graphischen Darstellungen wurden für diese Studie computergestützt mit Microsoft Excel 2016 erstellt. Des Weiteren wurden mithilfe des IBM SPSS Statistics Version 23 Box Plots erstellt, um die Lageparameter wieder zu geben. Bei nicht-parametrischer Verteilung und unabhängigen Stichproben fand hierbei der U-Test nach Mann & Whitney Anwendung. Box Plots sind graphische Darstellungen von Verteilungsstatistiken, um eine zentrale Tendenz, Streuung, Schiefe und Spannweite von Verteilungen einschließlich möglicher Ausreißer in einem Bild darstellen zu können. Die Box umfasst dabei die mittleren 50% der Verteilung und reicht daher von der unteren 25% Perzentile bis zur oberen 75% Perzentile. Der Median wird durch einen horizontalen Strich an der entsprechenden Stelle in der Box gekennzeichnet. Die horizontalen Linien unter- und oberhalb der Box (die sog. Whiskers) markieren die 10%-Perzentile und die 90%-Perzentile. Ausreißer werden außerhalb dieser Verteilung als einzelne Punkte dargestellt.

Zudem wurden Tabellen erstellt, in welchen ebenfalls der Median sowie zudem Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer) genannt sind.

6 Ergebnisse

6.1 Alter, Geschlecht und Raucherstatus

Die gesamte RB-ILD-Gruppe besteht aus 21 Patienten, von denen 17 (81%) männlich und 4 (19%) weiblich sind. Bei 7 von den 21 Patienten konnte die Diagnose histologisch gesichert werden. Bei diesen 7 Patienten handelt es sich um männliche Personen.

Bei 10 weiteren Patienten, von denen jeweils 50% weiblich und 50% männlich sind, konnte die Diagnose Sarkoidose histologisch gesichert werden.

Eine weitere Vergleichsgruppe besteht aus 12 gesunden Personen, von denen 5 (42%) weiblich und 7 (58%) männlich sind (siehe Abbildung 5/ Tabelle 3).

Das mediane Alter der untersuchten RB-ILD-Patienten betrug zum BAL-Zeitpunkt 47 Jahre. Die Patienten mit Sarkoidose wiesen ein medianes Alter von 48 Jahren auf, während das mediane Alter der gesunden Vergleichsgruppe 25,5 Jahre alt war (siehe Abbildung 4/ Tabelle 3).

Die Patienten mit RB-ILD waren alle Raucher (90,5%) bzw. Ex-Raucher (9,5%). Die mediane Anzahl an Pack Years betrug bei der RB-ILD 30 und bei der Sarkoidose 0. Die gesunde Kontrollgruppe bestand aus Nichtrauchern (siehe Abbildung 6/ Tabelle 3).

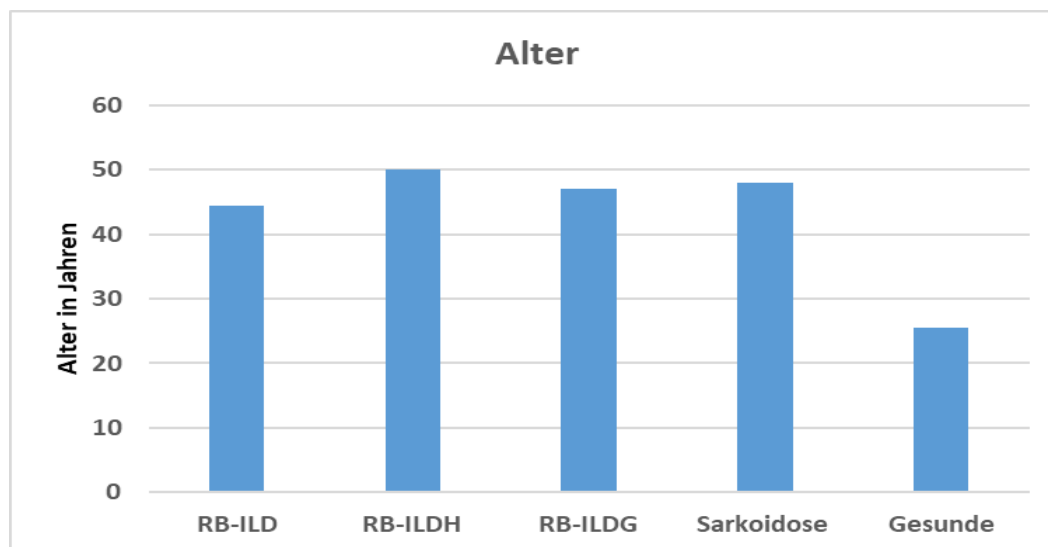


Abbildung 4: Verteilung des Alters der rekrutierten Patienten angegeben als Median. (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21, Sarkoidose: n=10, Gesunde: n=12) (siehe auch Tabelle 3)

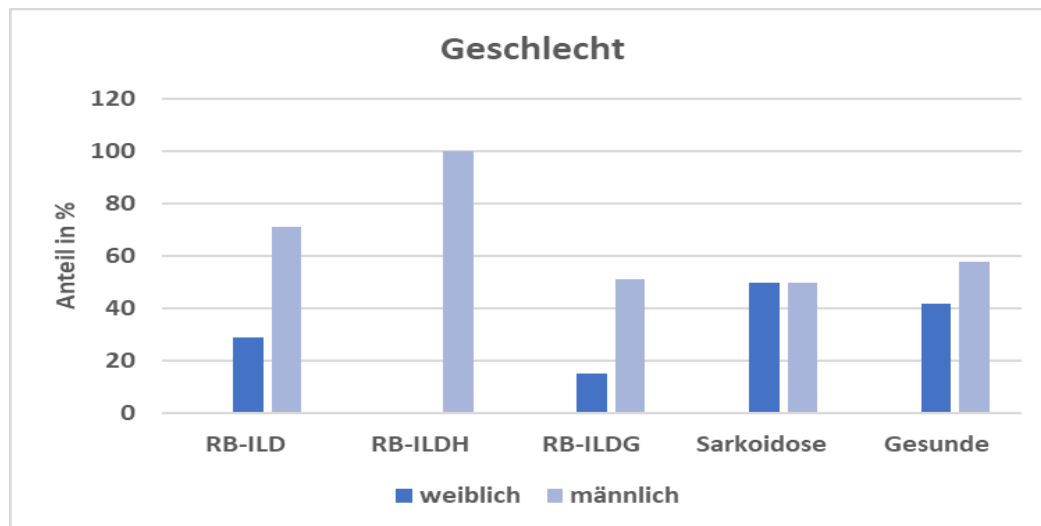


Abbildung 5: Verteilung des Geschlechts der rekrutierten Patienten.

(RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21, Sarkoidose: n=10, Gesunde: n=12)
(siehe auch Tabelle 3)

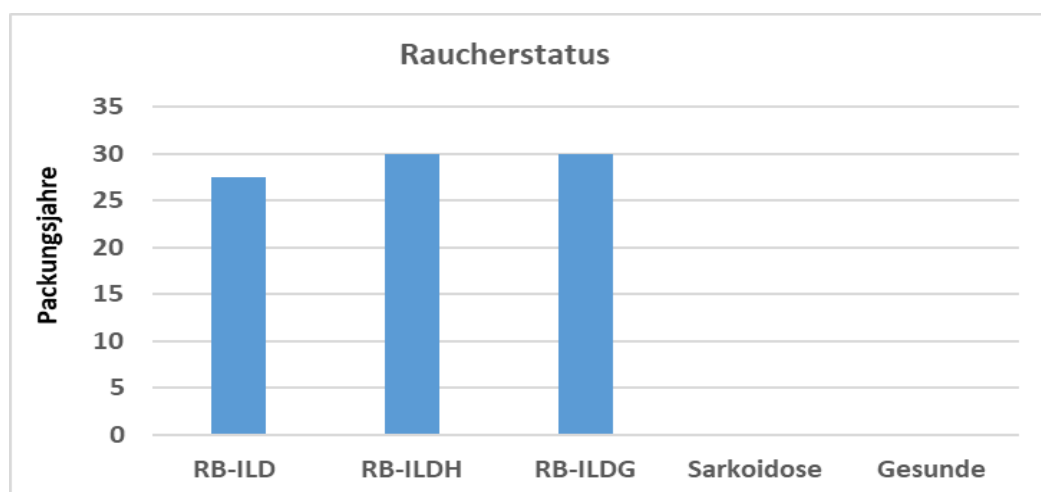


Abbildung 6: Ausmaß des Zigarettenkonsums der rekrutierten Patienten. Die Daten sind als Median der Packungsjahre (PY) angegeben. (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21, Sarkoidose: n=10, Gesunde: n=12) (siehe auch Tabelle 3)

6.2 Blutbild

Die einzelnen RB-ILD-Gruppen und die Patienten mit Sarkoidose wurden im Hinblick auf die Anzahl der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten sowie den relativen Anteil der Lymphozyten und neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten an den Gesamtleukozyten miteinander verglichen. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt jeweils in Tabellen sowie zusätzlich graphisch mit Hilfe von Box-Plots. Zur gesunden Kontrollgruppe liegen keine Werte bezüglich der Blutzellen vor.

Tabelle 4: Zahl der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten im Blut von Patienten mit Sarkoidose (n=10) und den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) (siehe auch Abbildung 7-9).

Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Es zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen der RB-ILD- und der Sarkoidose-Gruppe ($p<0,01$) sowie der RB-ILDG- und Sarkoidose-Gruppe ($p=0,04$) bezüglich der Thrombozytenzahl. Bezüglich der Anzahl der weiteren Zelltypen zeigen sich zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Zelltyp (Normbereich)	Leukozyten (4,4 – 11,3 Gpt/l)	Erythrozyten (4,5 – 5,9 Tpt/l)	Thrombozyten (150 – 360 Gpt/l)
RB-ILD	8,40 Gpt/l (6,00-13,38 Gpt/l)	4,75 Tpt/l (4,10-5,40 Tpt/l)	233,50 Gpt/l (193,00-284,00 Gpt/l)
RB-ILDH	9,30 Gpt/l (6,10-15,60 Gpt/l)	4,50 Tpt/l (4,30-4,90 Tpt/l)	355,00 Gpt/l (177,00-391,00 Gpt/l)
RB-ILDG	8,80 Gpt/l (6,00-15,60 Gpt/l)	4,70 Tpt/l (4,10-5,40 Tpt/l)	234,00 Gpt/l (177,00-391,00 Gpt/l)
Sarkoidose	6,40 Gpt/l (4,70-10,50 Gpt/l)	5,00 Tpt/l (4,30-6,30 Tpt/l)	281,00 Gpt/l (194,00-398,00 Gpt/l)

Leukozyten

Die Zahl der Blutleukozyten lag mit einem Median von 8,8 Gpt/l bei der RB-ILD über den Blutleukozyten bei Patienten mit Sarkoidose (6,4 Gpt/l). Bei beiden Patientenkollektiven lag die Zahl der Blutleukozyten im Normbereich (siehe Tabelle 4/Abbildung 7). Es zeigten sich zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

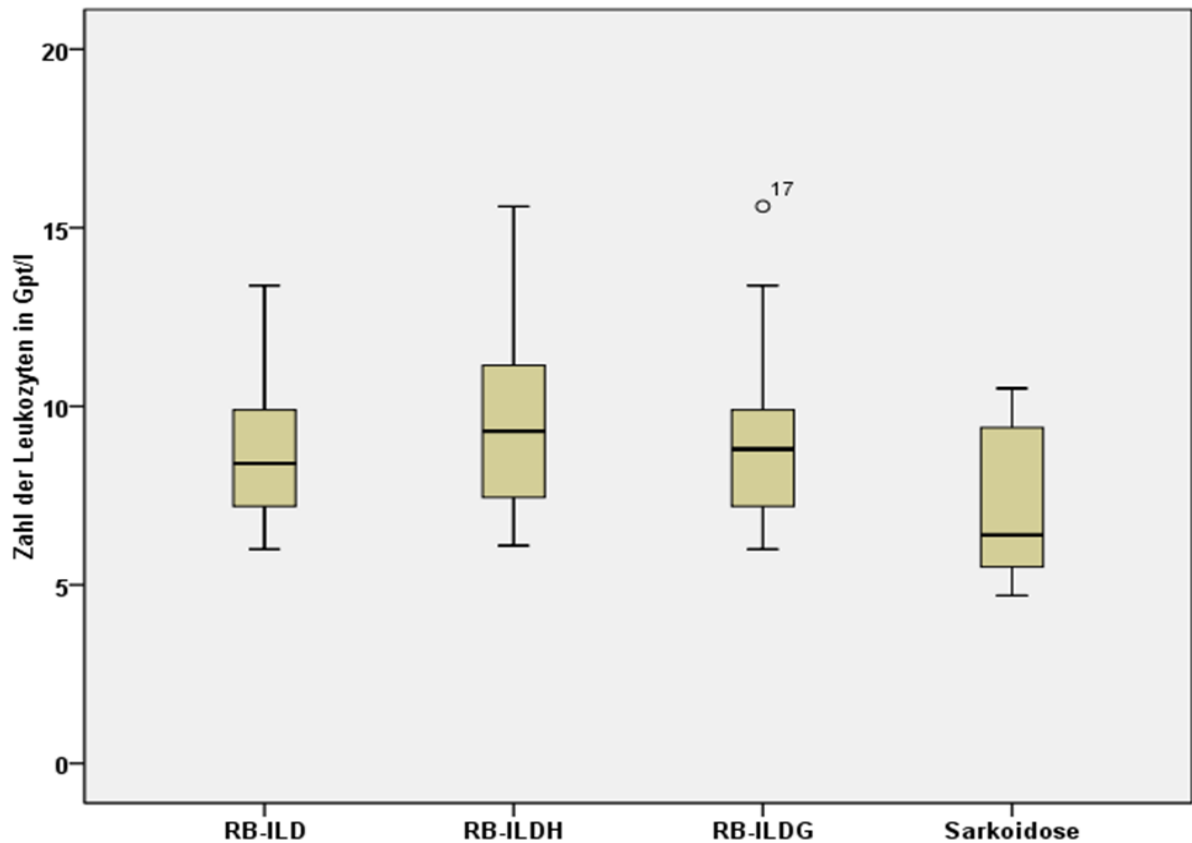


Abbildung 7: Zahl der Leukozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 4). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Erythrozyten

Die Erythrozytenzahl lag mit 5,0 Tpt/l bei der Sarkoidose über der Zahl bei der RB-ILD (4,7 Tpt/l). Beide Zellzahlen lagen im Normbereich (siehe Tabelle 4/Abbildung 8). Es zeigten sich zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

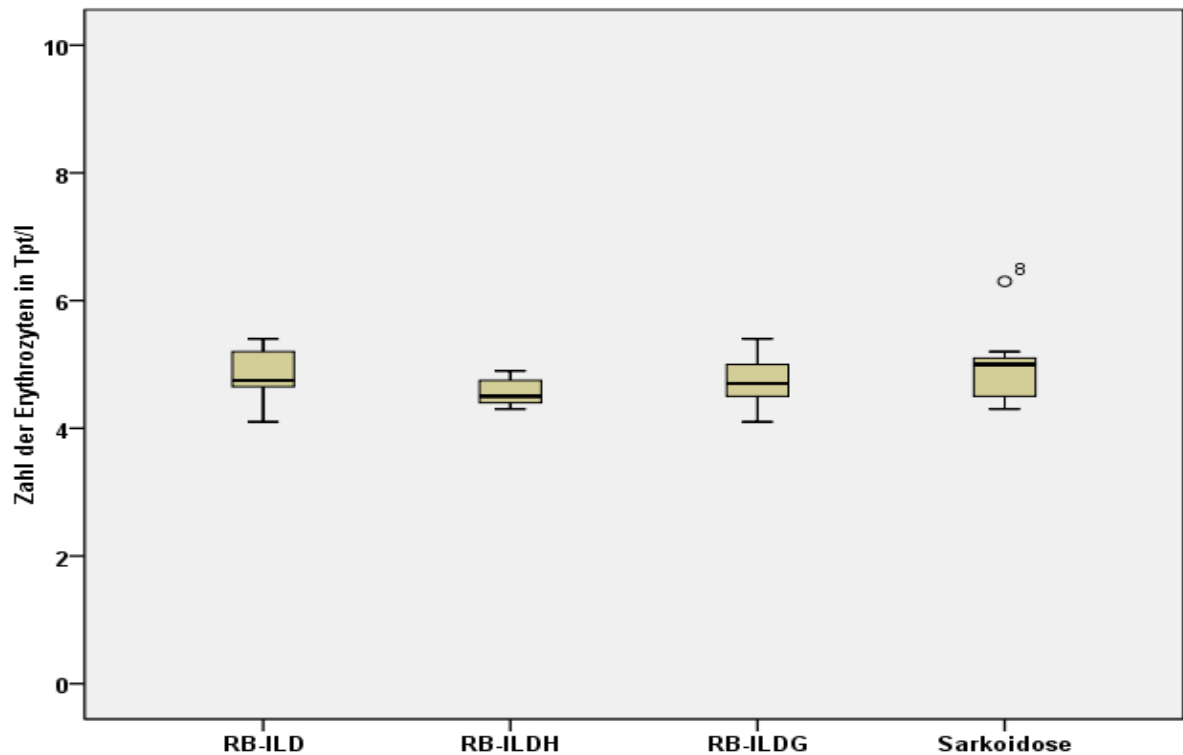


Abbildung 8: Zahl der Erythrozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 4). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Thrombozyten

Die Thrombozyten lagen bei allen Gruppen im Normbereich. Während die Thrombozytenzahl bei histologisch-gesicherter RB-ILD 355 Gpt/l betrug, lag diese bei Patienten mit nicht histologisch-gesicherter RB-ILD bei 234 Gpt/l. Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Bei Sarkoidose betrug die Thrombozytenzahl 281 Gpt/l. Somit zeigten sich bei Sarkoidose signifikant mehr Thrombozyten als bei allen RB-ILD-Patienten ($p=0,04$) (siehe Tabelle 4/Abbildung 9).

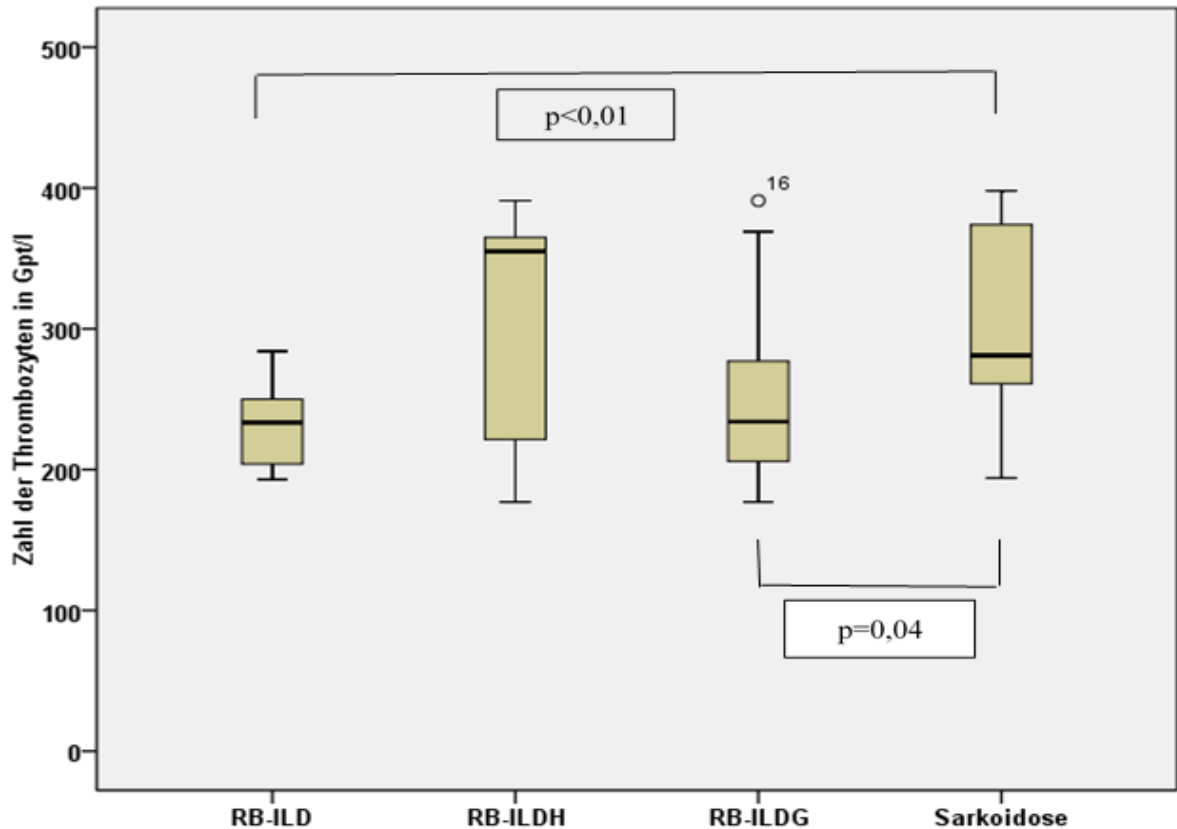


Abbildung 9: Zahl der Thrombozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: $n=14$, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: $n=7$, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: $n=21$) und Sarkoidose ($n=10$) (siehe auch Tabelle 4). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Tabelle 5: Relativer Anteil der Lymphozyten, Neutrophilen, Eosinophilen und Basophilen an Gesamtleukozyten im Blut von Patienten mit Sarkoidose (n=10) und den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) (siehe auch Abbildung 10-13). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen der RB-ILD- und Sarkoidose-Gruppe (p=0,03) bezogen auf den relativen Anteil der Neutrophilen an den Gesamtleukozyten. Bezüglich der weiteren Zelltypen zeigen sich zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Zelltyp (Normb.)	Lymphozyten (18-50%)	Neutrophile (35-75%)	Eosinophile (<7%)	Basophile (<1%)
RB-ILD	24,50% (6,00%-36,00%)	61,00% (54,00%-70,00%)	2,00% (0,00%-5,00%)	0,25% (0,00%-5,00%)
RB-ILDH	14,00% (6,00%-33,00%)	78,00% (56,00%-90,00%)	1,00% (0,00%-8,00%)	0,00% (0,00%-1,00%)
RB-ILDG	24,00% (6,00%-36,00%)	63,00% (54,00%-90,00%)	2,00% (0,00%-8,00%)	0,00% (0,00%-2,00%)
Sarkoidose	19,00% (9,00%-28,00%)	71,00% (53,00%-82,00%)	2,00% (0,00%-5,00%)	1,00% (0,00%-1,00%)

Lymphozyten

Der relative Anteil der Lymphozyten an den Gesamtleukozyten war bei dem gesamten Patientenkollektiv mit RB-ILD (24%) höher als bei der Sarkoidose (19%). Bei den Patienten mit histologisch-gesicherter RB-ILD lag der relative Lymphozytenanteil hingegen bei 14%, was einer geringfügigen relativen Lymphozytopenie entspricht (siehe Tabelle 5/Abbildung 10). Die beschriebenen Unterschiede zwischen den Gruppen waren jedoch nicht signifikant.

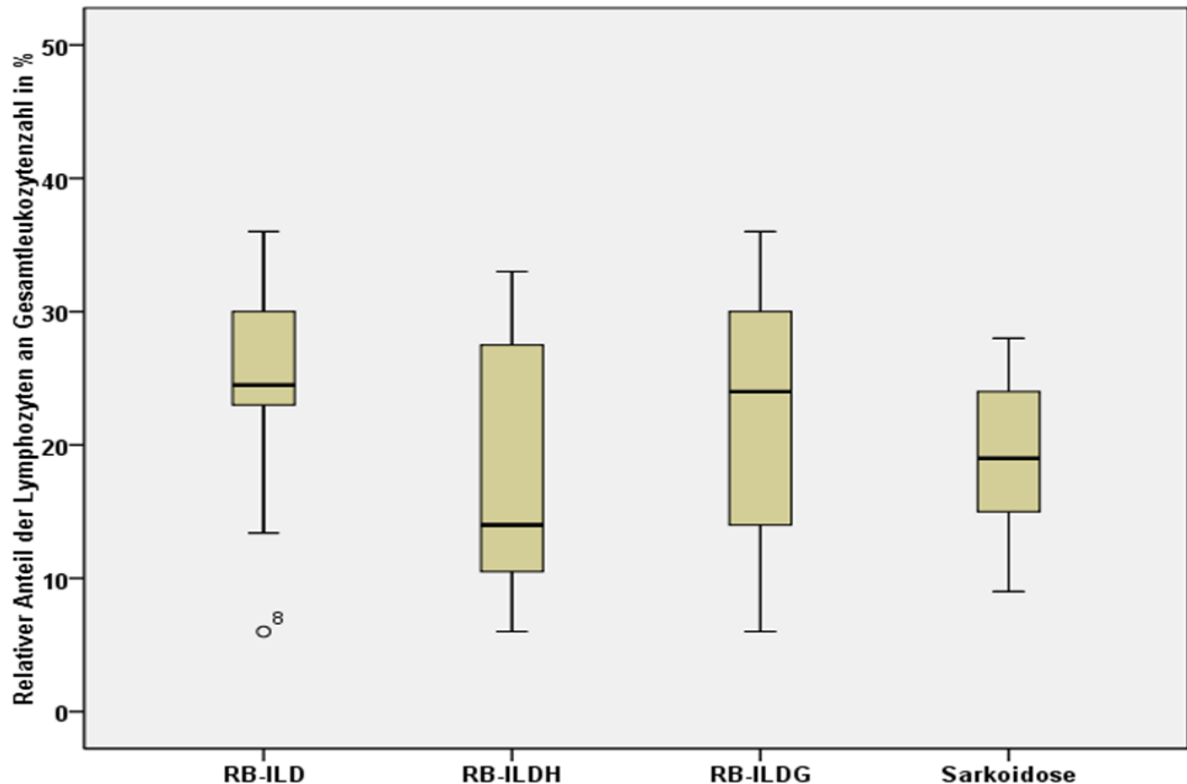


Abbildung 10: Relativer Anteil der Lymphozyten an Gesamtleukozytenzahl im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 5). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte.

Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Neutrophile

Der relative Anteil der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl bei Sarkoidose lag signifikant ($p=0,03$) über dem bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD (71% versus 61%). Bei histologisch-gesicherter RB-ILD zeigte sich hingegen ein erhöhter Anteil an neutrophilen Granulozyten von 78% (siehe Tabelle 5/Abbildung 11). Hierbei lag keine Signifikanz vor.

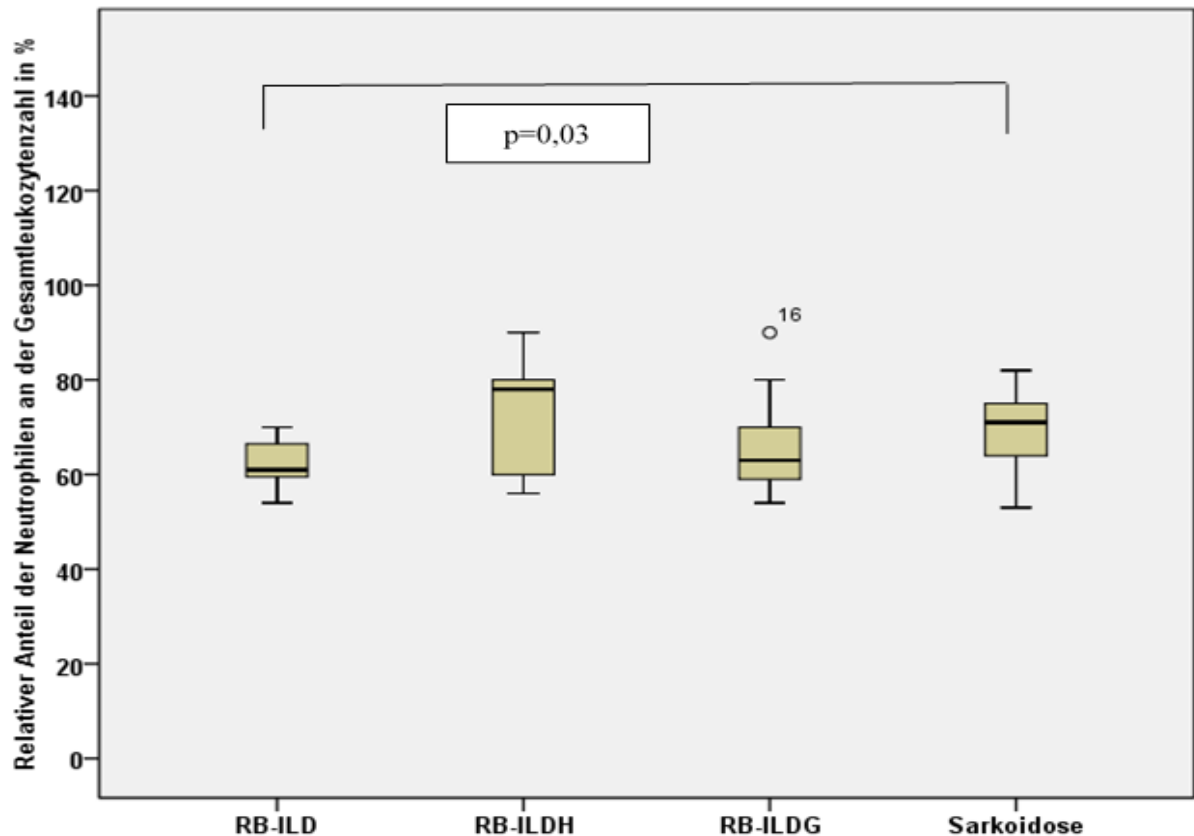


Abbildung 11: Relativer Anteil der neutrophilen Granulozyten an Gesamtleukozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: $n=14$, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: $n=7$, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: $n=21$) und Sarkoidose ($n=10$) (siehe auch Tabelle 5). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Eosinophile und Basophile

In Bezug auf eosinophile und basophile Granulozyten zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 5/Abbildung 12 bzw. 13).

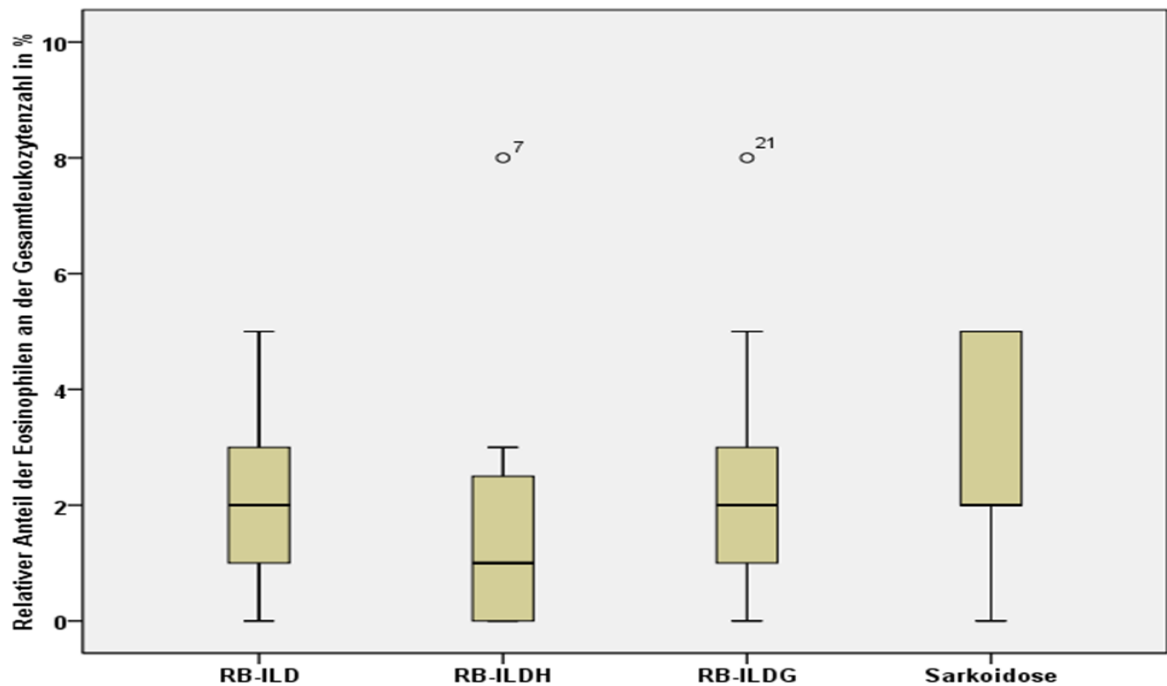


Abbildung 12: Relativer Anteil der eosinophilen Granulozyten an Gesamtleukozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 5). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

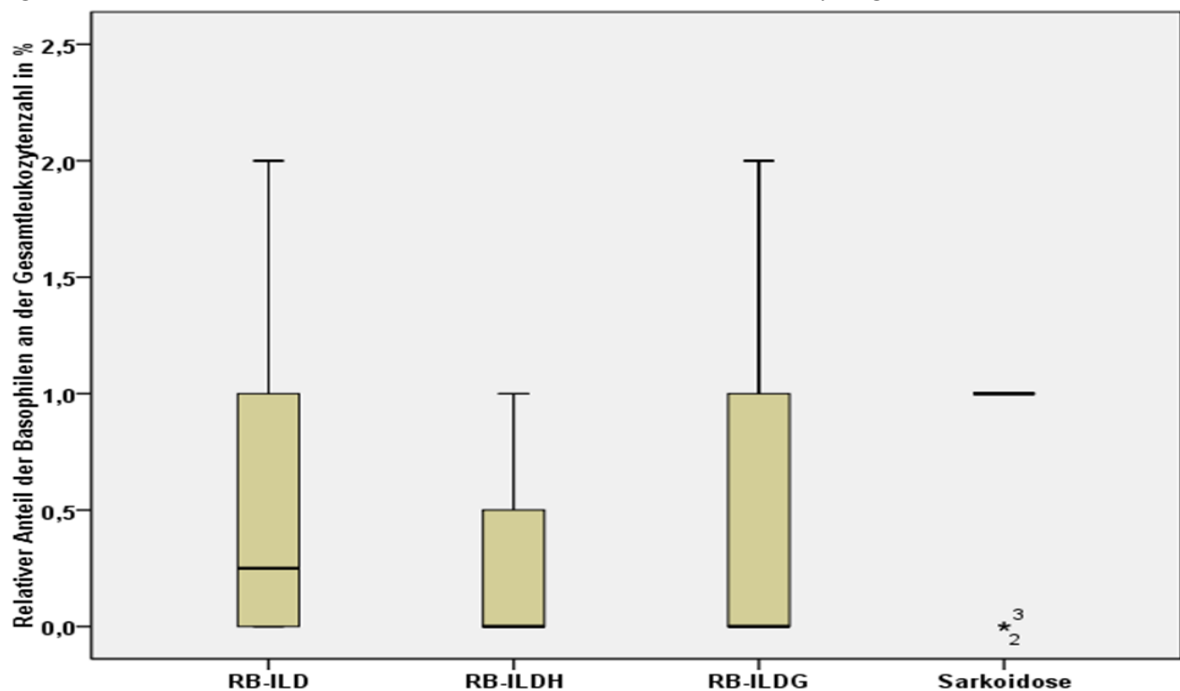


Abbildung 13: Relativer Anteil der basophilen Granulozyten an Gesamtleukozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 5). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3 Bronchoalveoläre Zellen

Die RB-ILD-Patienten mit und ohne histologischer Diagnosesicherung, die Sarkoidose-Patienten sowie die gesunde Vergleichsgruppe wurden bezüglich der bronchoalveolären Lavage im Hinblick auf den jeweiligen medianen relativen Anteil der NKT-Zellen, NK-Zellen, Pigmentmakrophagen, B-Zellen, CD4⁺CD25⁺-, CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺- und CD4⁺CD103⁺- T-Lymphozyten an den Gesamtlymphozyten sowie den CD4⁺/CD8⁺-Quotient untersucht. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt jeweils in Tabellen sowie zusätzlich graphisch mit Hilfe von Box-Plots.

6.3.1 CD3⁺ T-Lymphozyten

Es zeigte sich in allen Gruppen eine Vermehrung der CD3⁺ T-Zellen. Diese lag bei der RB-ILD sowie bei den Gesunden um die 90%, während sie bei der Sarkoidose etwa 95% betrug. Somit enthielt die BAL bei Sarkoidose im Vergleich zu der BAL bei RB-ILD signifikant mehr CD3⁺ T-Zellen (p=0,02) (siehe Tabelle 6/Abbildung 14).

Tabelle 6: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD3⁺ T-Lymphozyten an Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 14). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen der RB-ILDH- und Sarkoidose-Gruppe (p=0,03) bzw. zwischen der RB-ILDG- und Sarkoidose-Gruppe (p=0,02).

Gruppen	CD3 ⁺ T-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	91,25% (69,16% - 96,99%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	88,68% (68,96% - 93,24%)
RB-ILD gesamt (n=21)	89,03% (68,96% - 96,99%)
Sarkoidose (n=10)	95,10% (77,50% - 98,08%)
Gesunde (n=12)	90,11% (82,89% - 98,14%)

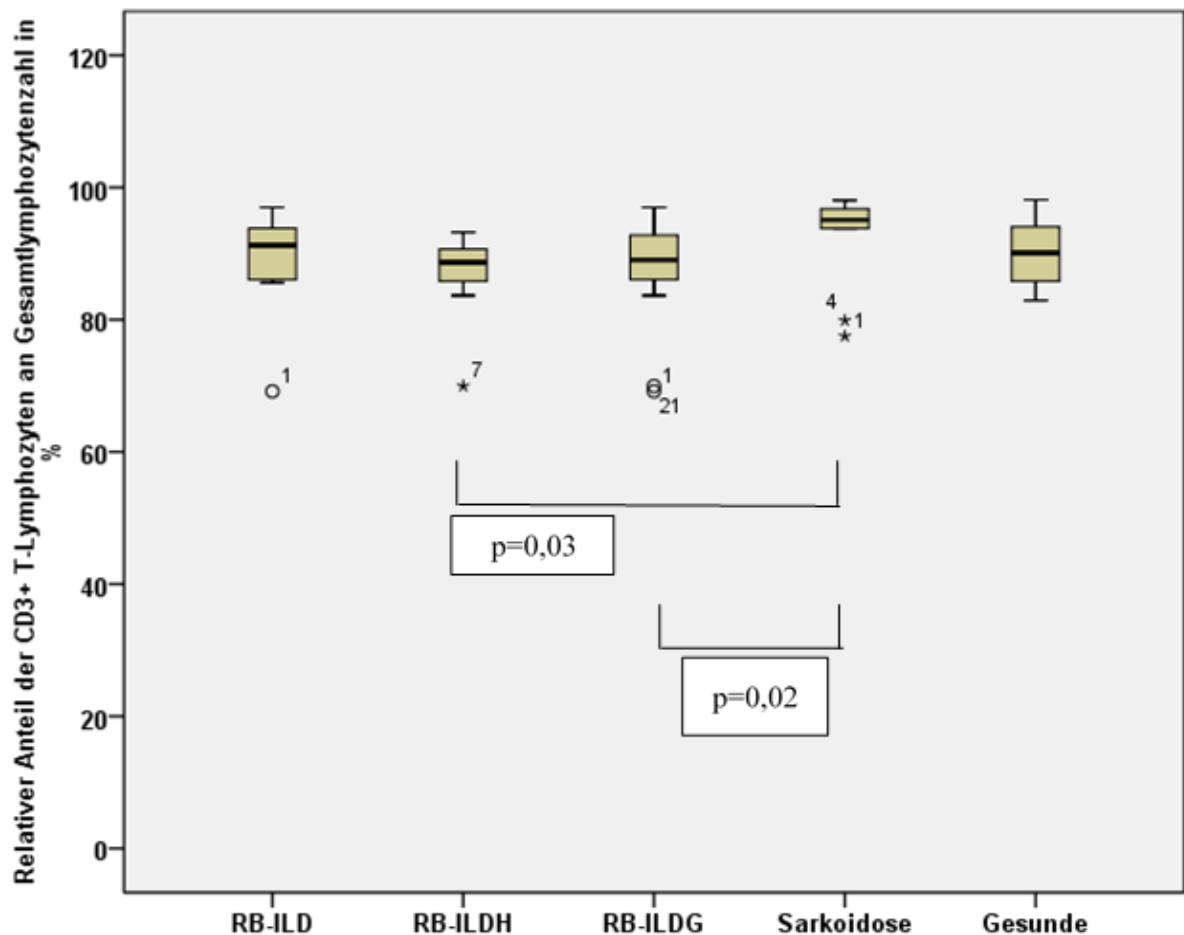


Abbildung 14: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD3⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 6). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.2 CD4⁺ T-Lymphozyten

Der relative Anteil der CD4⁺ T-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei der RB-ILD war signifikant niedriger als bei der Sarkoidose bzw. den Gesunden ($p < 0,01$). Die beiden zuletzt genannten Gruppen zeigten in der BAL – verglichen mit dem Normwert – eine Vermehrung von CD4⁺ T-Zellen, wobei bei den Gesunden diese mit 68% signifikant unter der bei Sarkoidose (83%) lag ($p = 0,05$). Es fanden sich auch innerhalb der RB-ILD-Gruppen signifikante Unterschiede ($p = 0,04$) in Bezug auf den jeweiligen Anteil der CD4⁺ T-Zellen (histologisch-gesicherte: 37% versus nicht histologisch-gesicherte: 59%) (siehe Tabelle 7/Abbildung 15).

Tabelle 7: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD4⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 15). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen innerhalb der RB-ILD-Gruppen ($p = 0,04$) sowie jeweils zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden sowie der Sarkoidose-Gruppe (je $p < 0,01$)

Gruppen	CD4 ⁺ T-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	58,70% (36,48% - 85,89%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	37,06% (23,14% - 60,99%)
RB-ILD gesamt (n=21)	40,85% (23,14% - 85,89%)
Sarkoidose (n=10)	83,38% (52,24% - 95,57%)
Gesunde (n=12)	67,98% (43,81% - 86,78%)

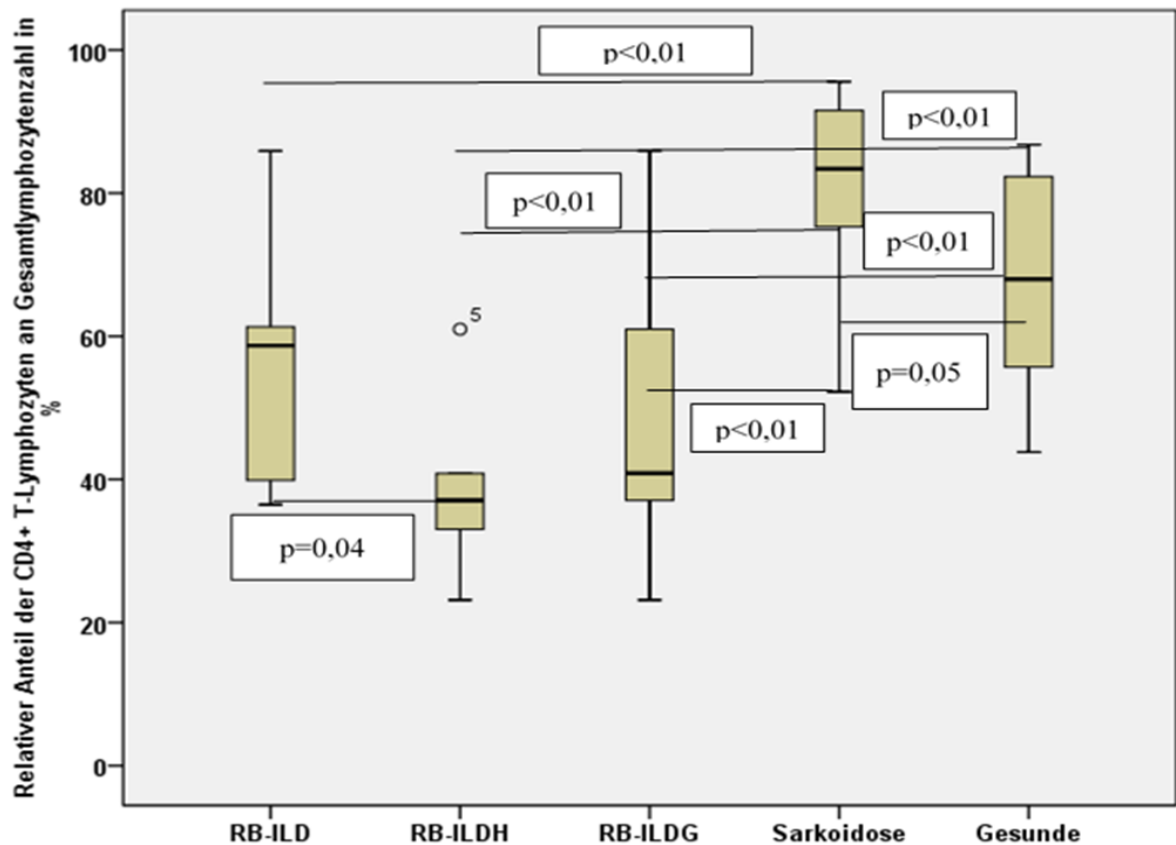


Abbildung 15: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD4⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD (n=14), RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 7). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.3 CD8⁺ T-Lymphozyten

Die CD8⁺ T-Zellen ließen sich bei der gesamten RB-ILD mit 33% in der BAL nachweisen, wobei der Anteil der CD8⁺ T-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei den histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten bei 52% und somit über dem Normwert lag. Es zeigte sich somit eine signifikante Vermehrung dieser Zellart bei RB-ILD verglichen mit den Gesunden (16%) und der Sarkoidose (10%) (p<0,01), deren Zellanteil unter dem Normwert lag (siehe Tabelle 8/Abbildung 16).

Tabelle 8: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD8⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 16). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden bzw. der Sarkoidose-Gruppe (jeweils $p < 0,01$).

Gruppen	CD8 ⁺ T-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	31,91% (9,01% - 58,88%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	51,87% (21,57% - 68,65%)
RB-ILD gesamt (n=21)	33,34% (9,01% - 68,65%)
Sarkoidose (n=10)	10,12% (2,92% - 45,90%)
Gesunde (n=12)	15,70% (10,71% - 45,14%)

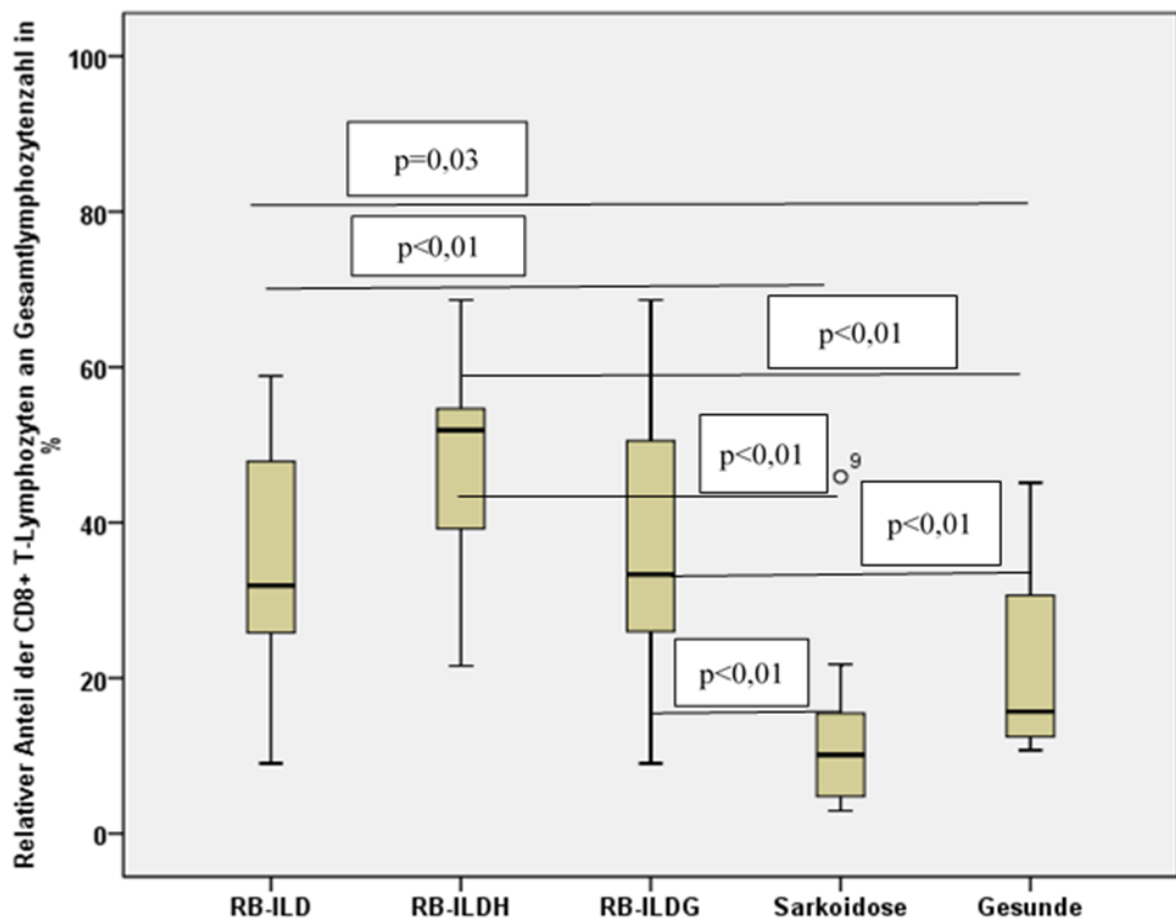


Abbildung 16: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD8⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 8). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.4 CD4⁺/CD8⁺-Quotient bronchoalveolärer T-Lymphozyten

Der CD4⁺/CD8⁺-Quotient von 8,8 in der BAL bei Sarkoidose lag über dem Normwert und war somit signifikant höher als bei der RB-ILD (1,3) ($p < 0,01$) bzw. bei der gesunden Vergleichsgruppe (4,6) ($p = 0,05$). Innerhalb der histologisch-gesicherten bzw. nicht gesicherten RB-ILD war ein signifikanter Unterschied ($p = 0,03$) bezogen auf den CD4⁺/CD8⁺-Quotienten festzustellen (nicht histologisch-gesicherte: 1,9 versus histologisch-gesicherte: 0,8) (siehe Tabelle 9/Abbildung 17) .

Tabelle 9: Verteilung des CD4⁺/CD8⁺-Quotienten bronchoalveolärer T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 17). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden bzw. der Sarkoidose-Gruppe (jeweils $p < 0,01$) sowie innerhalb der RB-ILD-Gruppen ($p = 0,03$)

Gruppen	CD4⁺/CD8⁺-Quotienten
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	1,85 (0,63 - 9,53)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	0,79 (0,34 – 1,85)
RB-ILD gesamt (n=21)	1,31 (0,34 – 9,53)
Sarkoidose (n=10)	8,82 (1,14 – 32,73)
Gesunde (n=12)	4,58 (0,97 – 8,10)

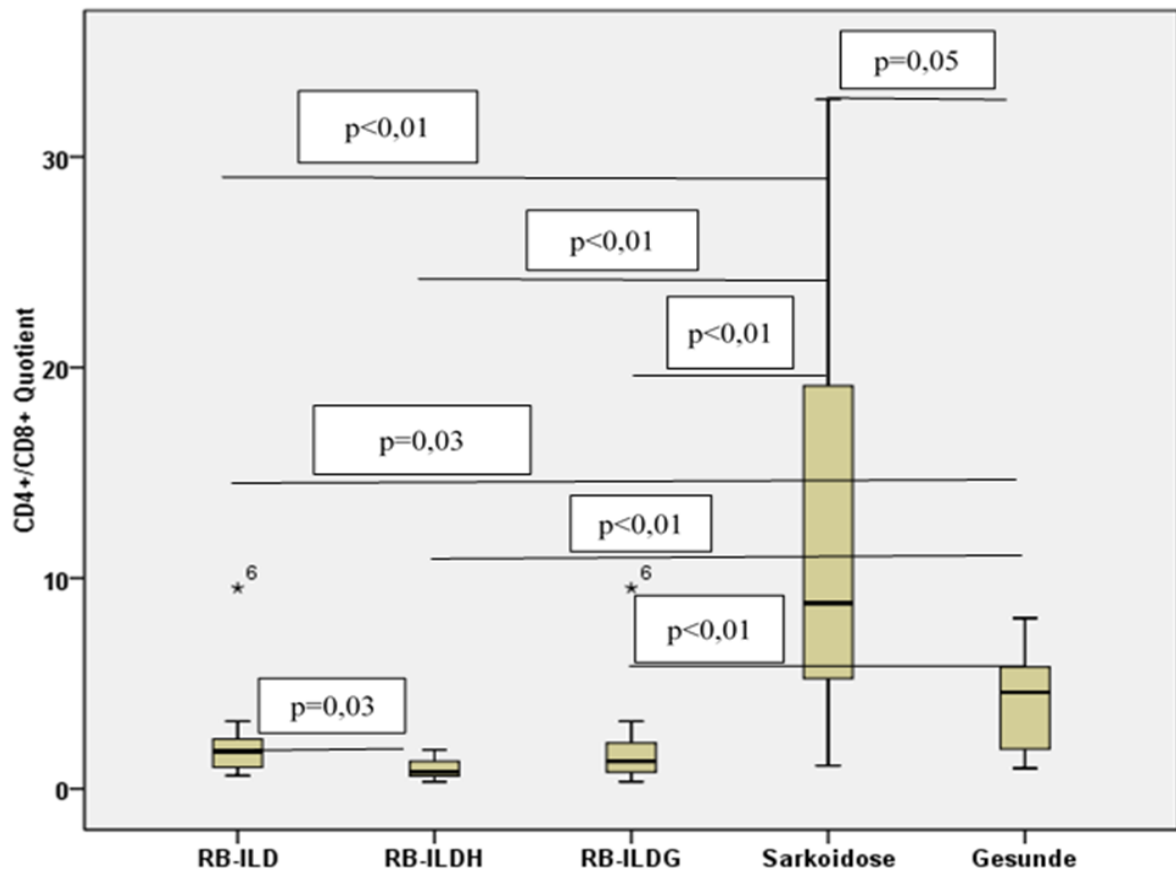


Abbildung 17: Verteilung des CD4⁺/CD8⁺-Quotienten bronchoalveolärer T-Zellen bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n =14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 9). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.5 CD4⁺CD25⁺ T-Lymphozyten

Der relative Anteil der CD4⁺ CD25⁺ T-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl war bei der RB-ILD mit 18% in der BAL erhöht und lag signifikant über den Kontrollen (p=0,01 bzw. p<0,01). In den Vergleichsgruppen betrug er 5% (Sarkoidose) bzw. 9% (Gesunde) (siehe Tabelle 10/Abbildung 18).

Tabelle 10: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD4⁺CD25⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 18). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden (p= 0,01) bzw. der Sarkoidose-Gruppe (p<0,01).

Gruppen	CD4 ⁺ CD25 ⁺ T-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	17,46% (6,20% - 67,89%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	18,00% (3,72% - 41,02%)
RB-ILD gesamt (n=21)	18,00% (3,72% - 67,89%)
Sarkoidose (n=10)	5,30% (1,16% - 10,71%)
Gesunde (n=12)	8,58% (2,73% - 22,18%)

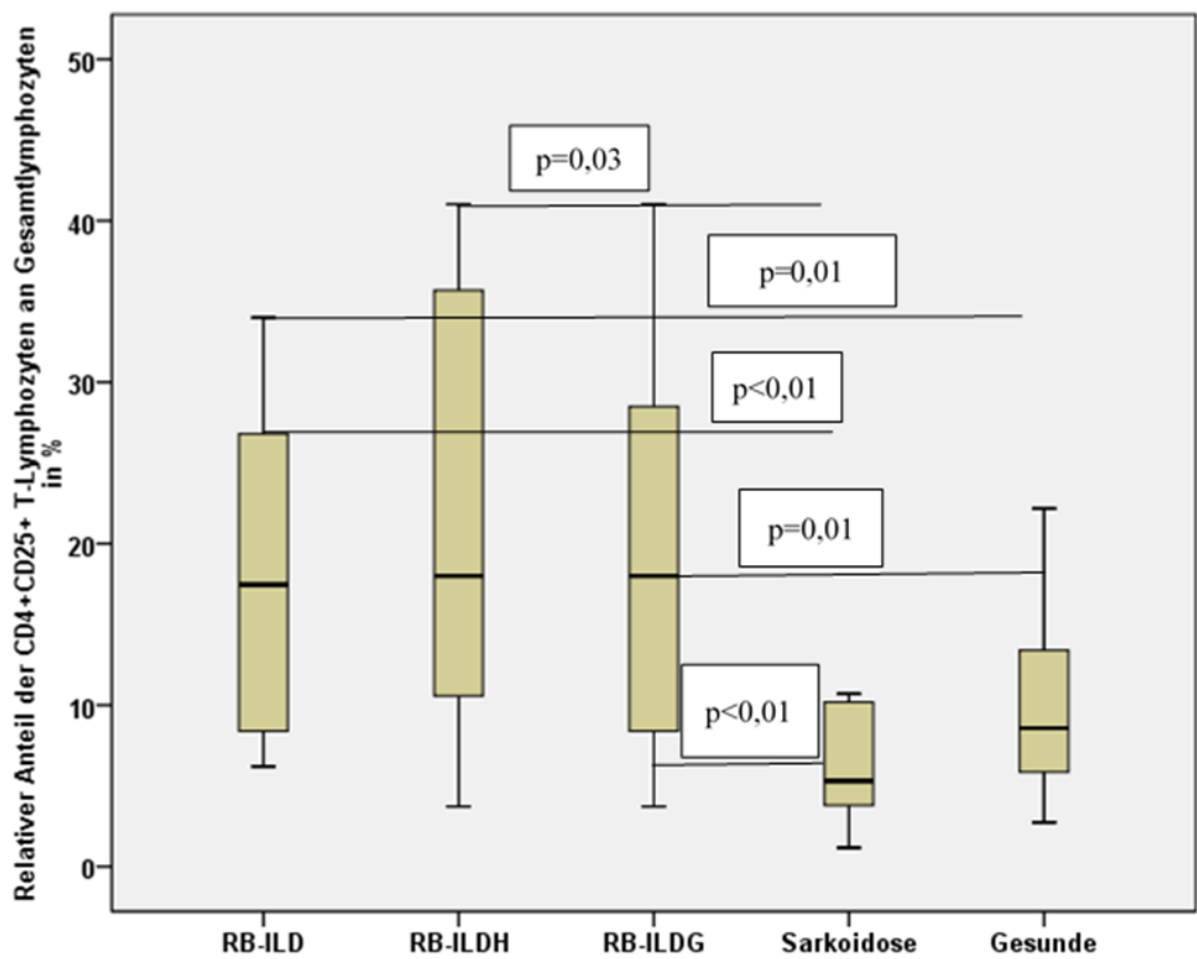


Abbildung 18: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD4⁺CD25⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 10). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.6 CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten

Der relative Anteil der CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl lag bei allen Gruppen im Normbereich. Bei den Gesunden betrug er 24% und bei der Sarkoidose 22%. Bei der RB-ILD wurden 36% CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten in der BAL nachgewiesen. Bei der histologisch-gesicherten RB-ILD waren es 30%, während die nicht histologisch-gesicherten Fälle 39% CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten aufwiesen. Somit lag der relative Anteil der CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten bei RB-ILD signifikant höher als bei der Sarkoidose (p=0,02) (siehe Tabelle 11/Abbildung 19).

Tabelle 11: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 19). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen der RB-ILD- und Sarkoidose-Gruppe (p=0,04) bzw. der RB-ILDG- und Sarkoidose-Gruppe (p=0,02).

Gruppen	CD4⁺CD103⁺T-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	38,77% (10,72% - 58,96%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	29,54% (23,21% - 73,49%)
RB-ILD gesamt (n=21)	36,08% (10,72% - 73,49%)
Sarkoidose (n=10)	22,48% (1,47% - 41,00%)
Gesunde (n=12)	24,09% (9,29% - 44,76%)

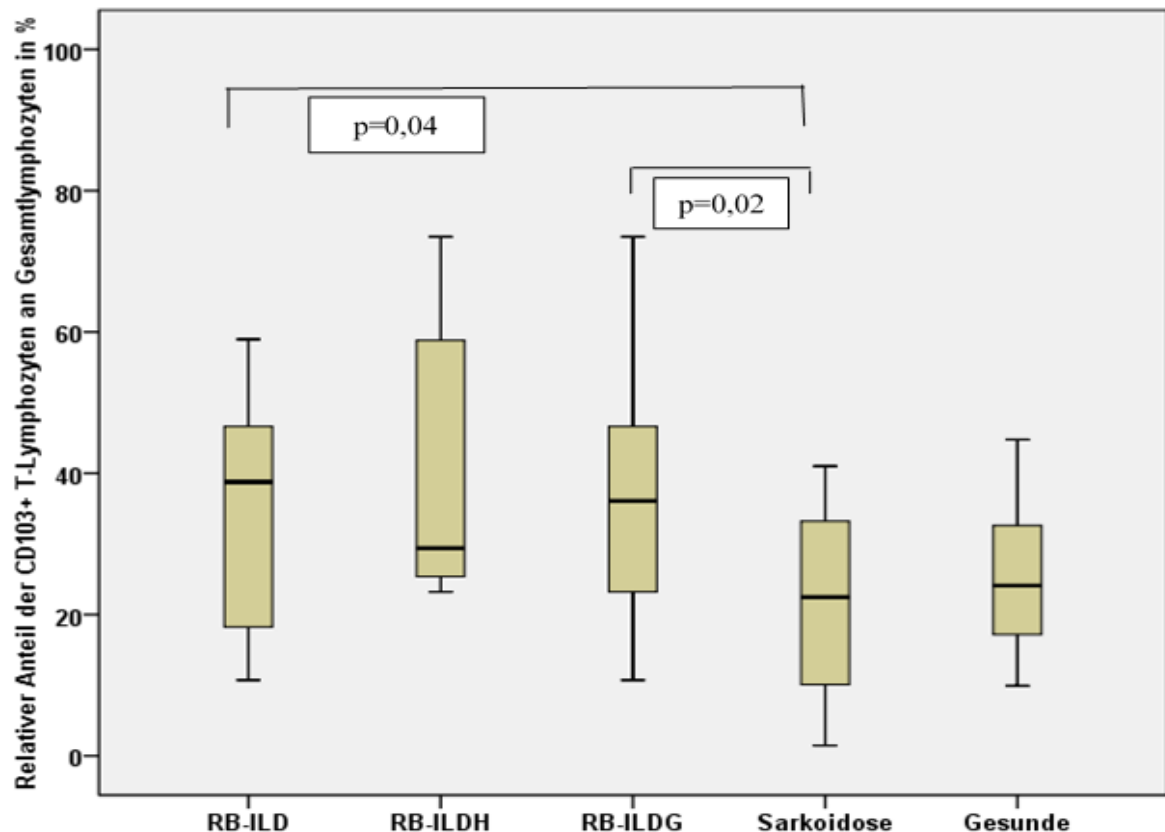


Abbildung 19: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD4⁺CD103⁺ T-Lymphozyten an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=21) (siehe auch Tabelle 11). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.7 Bronchoalveoläre B-Zellen

Der mediane relative Anteil der B-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl lag bei allen Patienten mit RB-ILD in der BAL bei 2,3 % und war somit signifikant ($p < 0,01$) höher als bei der Sarkoidose (0,5%). In der gesunden Vergleichsgruppe betrug er 1,5% und war somit nur tendenziell signifikant ($p > 0,05$) niedriger als bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD (siehe Tabelle 12/Abbildung 20).

Tabelle 12: Relativer Anteil bronchoalveolärer B-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 20). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen sowie der Sarkoidose-Gruppe ($p < 0,01$).

Gruppen	B-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	2,79% (0,93% - 92,58%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	2,21% (0,40% - 7,89%)
RB-ILD gesamt (n=21)	2,30% (0,40% - 92,58%)
Sarkoidose (n=10)	0,49% (0,28% - 3,47%)
Gesunde (n=12)	1,48% (0,36% - 12,59%)

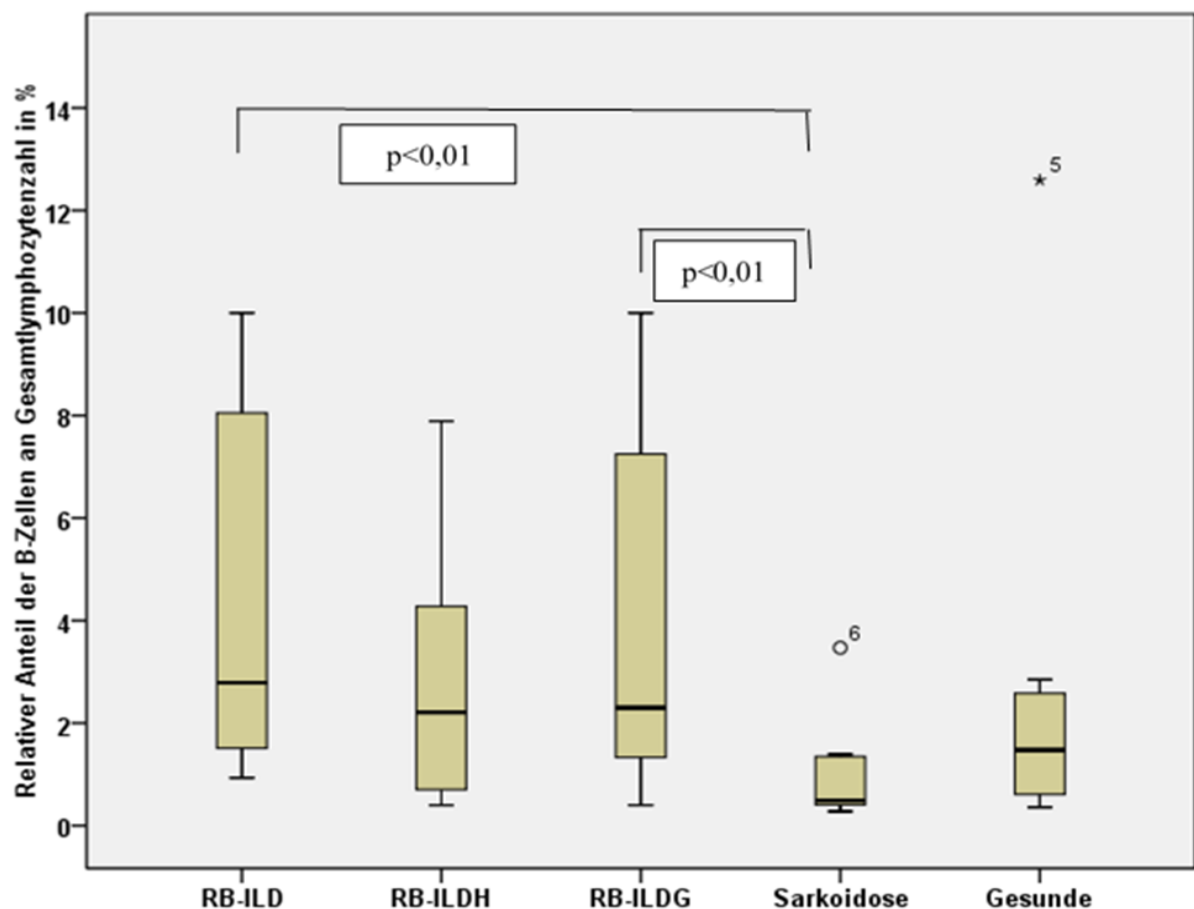


Abbildung 20: Relativer Anteil der bronchoalveolären B-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 12). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.8 Pigmentmakrophagen

In der BAL zeigte sich bei den RB-ILD-Patienten eine maximale Vermehrung der Makrophagen auf >60% aller Zellen (Normwert <3%).

Pigmentmakrophagen waren bei der Sarkoidose und den Gesunden in der BAL hingegen nahezu nicht nachzuweisen (Median: 0,00%). Bei der RB-ILD fanden sich mit einem Median von 19% signifikant mehr Pigmentmakrophagen ($p<0,01$) als in den Vergleichsgruppen. Bei der nicht histologisch-gesicherten Erkrankung lag der Anteil der Pigmentmakrophagen bei 24%; bei der histologisch-gesicherten Erkrankung bei 10%. Der Anteil der Pigmentmakrophagen bei histologisch-gesicherter RB-ILD war somit nur tendenziell signifikant höher ($p=0,07$) als bei Sarkoidose (siehe Tabelle 13/Abbildung 21).

Tabelle 13: Relativer Anteil bronchoalveolärer Pigmentmakrophagen in der BAL bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 21). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden bzw. der Sarkoidose-Gruppe (jeweils $p<0,01$).

Gruppen	Pigmentmakrophagen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	24,00% (5,00% - 65,00%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	10,00% (0,00% - 30,00%)
RB-ILD gesamt (n=21)	19,00% (0,00% - 65,00%)
Sarkoidose (n=10)	0,00% (0,00% - 19,00%)
Gesunde (n=12)	0,00% (0,00% - 7,00%)

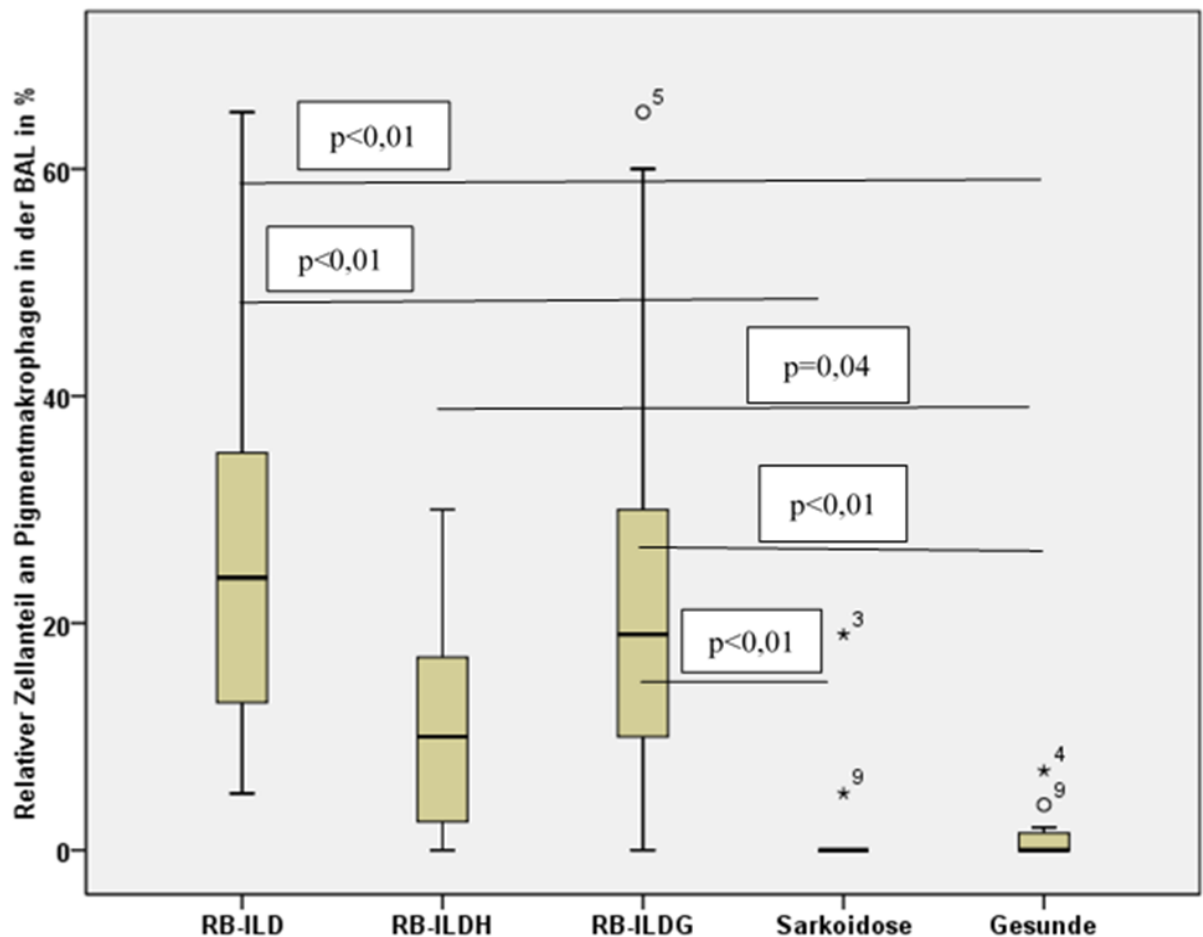


Abbildung 21: Relativer Anteil der bronchoalveolären Pigmentmakrophagen in der BAL bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 13). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.9 NK-Zellen

Der Anteil der NK-Zellen betrug bei der RB-ILD 3,8% (bei histologisch-gesicherten: 5,0%) und lag somit im Normbereich. Allerdings fanden sich signifikant mehr NK-Zellen ($p < 0,01$) in der BAL bei der RB-ILD als in den Vergleichsgruppen (Sarkoidose: 1,5% bzw. Gesunde: 1,2%) (siehe Tabelle 14/Abbildung 22).

Tabelle 14: Relativer Anteil bronchoalveolärer NK-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 22). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden bzw. der Sarkoidose-Gruppe (jeweils $p < 0,01$).

Gruppen	NK-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	3,79% (1,17% - 21,74%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	5,01% (1,49% - 27,99%)
RB-ILD gesamt (n=21)	3,89% (1,17% - 27,99%)
Sarkoidose (n=10)	1,53% (0,17% - 2,45%)
Gesunde (n=12)	1,22% (0,00% - 2,70%)

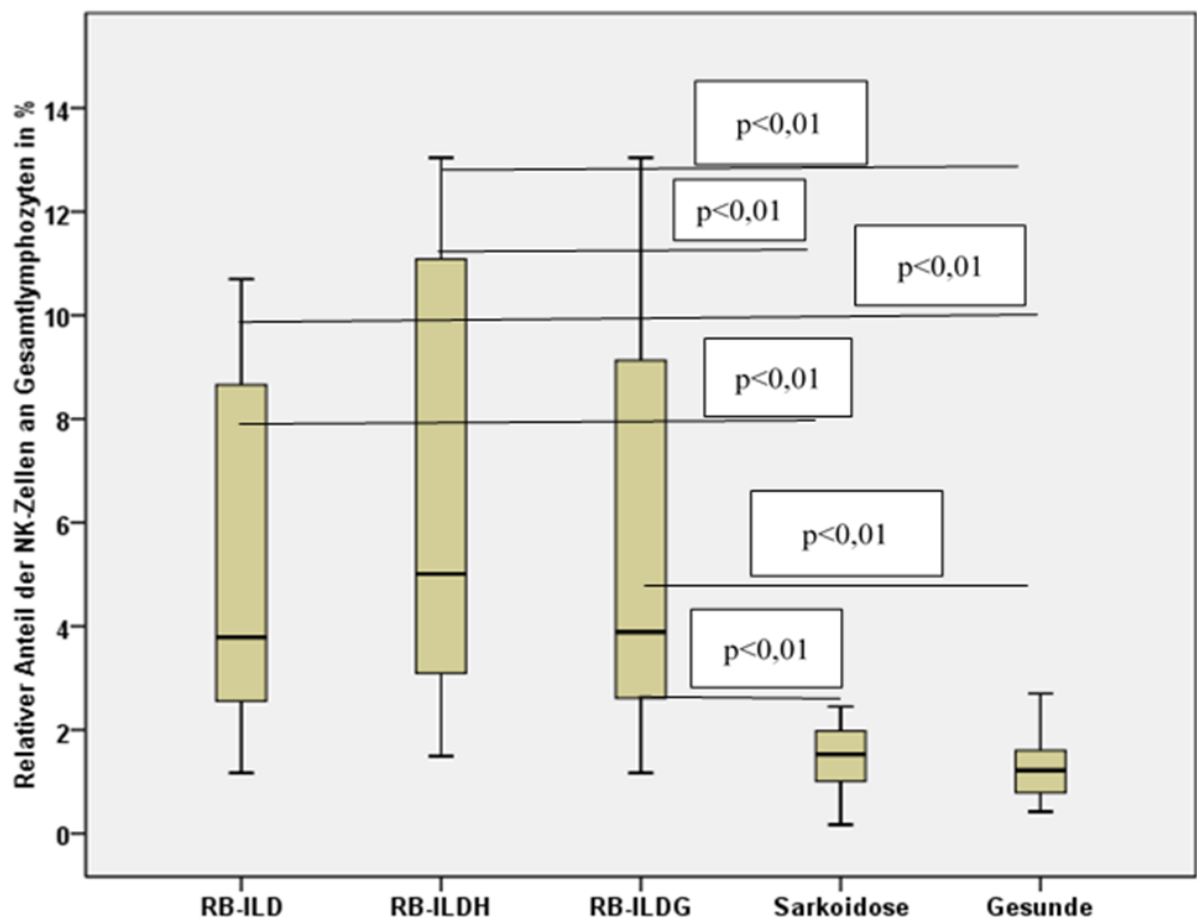


Abbildung 22: Relativer Anteil der bronchoalveolären NK-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 14). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.10 NKT-Zellen

Der Anteil der NKT-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl in der BAL war bei der RB-ILD mit 17% höher als der Normwert. Im Vergleich zur Sarkoidose und den Gesunden, die jeweils um die 2% NKT-Zellen in der BAL aufwiesen, waren die NKT-Zellen bei der RB-ILD signifikant erhöht ($p < 0,01$). Der Anteil der NKT-Zellen lag bei den histologisch-gesicherten Patienten mit RB-ILD höher als bei den nicht histologisch-gesicherten Patienten. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant (siehe Tabelle 15/Abbildung 23).

Tabelle 15: Relativer Anteil bronchoalveolärer NKT-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen (siehe auch Abbildung 23). Angegeben sind der Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Signifikante Unterschiede bestehen zwischen den RB-ILD-Gruppen und den Gesunden bzw. der Sarkoidose-Gruppe (jeweils $p < 0,01$).

Gruppen	NKT-Zellen
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	16,22% (8,59% - 36,60%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	18,47% (6,01% - 47,97%)
RB-ILD gesamt (n=21)	17,47% (6,01% - 47,97%)
Sarkoidose (n=10)	1,82% (0,24% - 36,38%)
Gesunde (n=12)	2,01% (1,00% - 11,94%)

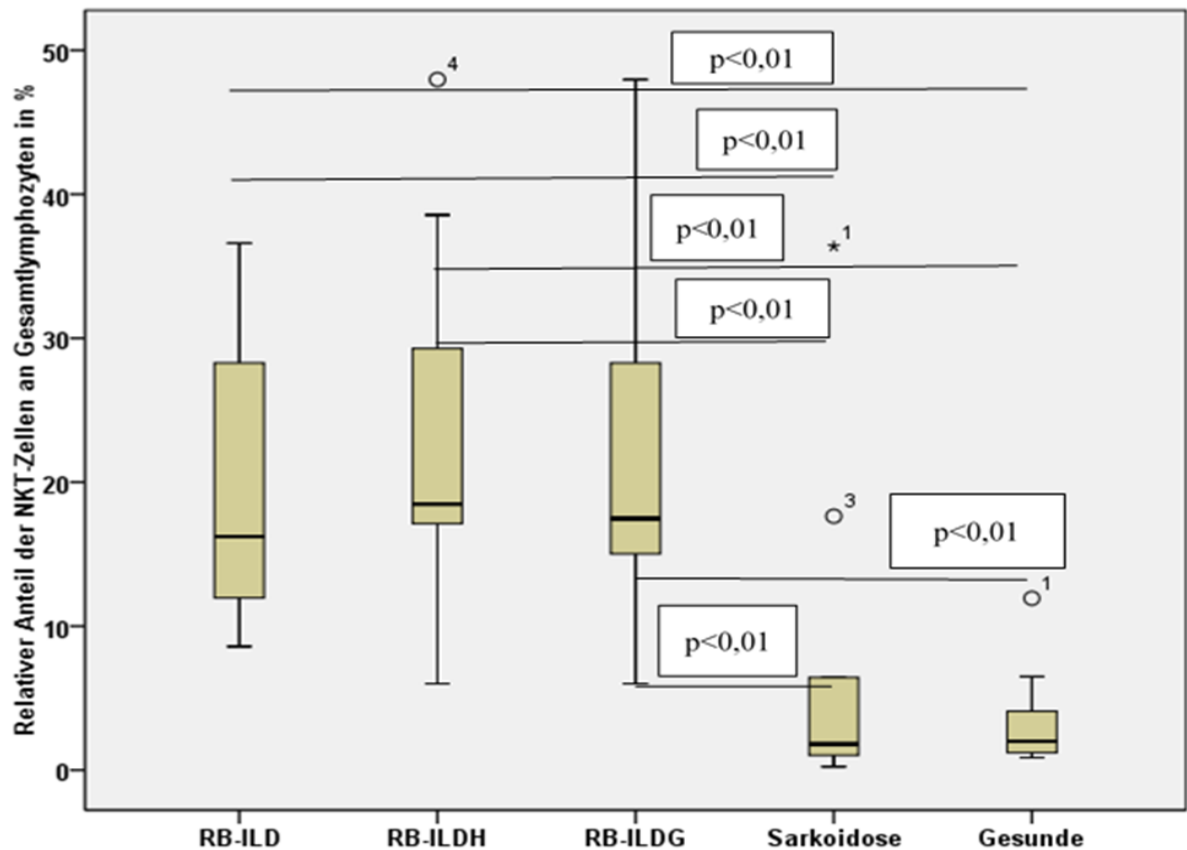


Abbildung 23: Relativer Anteil der bronchoalveolären NKT-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12) (siehe auch Tabelle 15). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.3.11 Kombiniertes Auftreten mehrerer Zellveränderungen in der BAL

Bei 18 von 21 Patienten (86%) mit RB-ILD waren die NKT-Zellen sowie vier bzw. fünf weitere untersuchte Zellreihen erhöht. Bei histologisch-gesicherter RB-ILD traten kombinierte Zellvermehrungen bei 6 von 7 Patienten, bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD bei 12 von 14 Patienten auf. Bei 76% der RB-ILD-Patienten konnten NKT-Zellen in Kombination mit Pigmentmakrophagen beobachtet werden.

6.4 Lungenfunktion

Die RB-ILD-Patienten sowie die Patienten mit Sarkoidose wurden lungenfunktionstechnisch im Hinblick auf das forciert expiratorische Volumen (FEV1) und dessen Anteil an der Vitalkapazität (VC), das Residualvolumen (RV) und die totale Lungenkapazität (TLC) sowie die Diffusionskapazität (DLCO/VA) analysiert. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt jeweils in Tabellen sowie zusätzlich graphisch mit Hilfe von Box-Plots. Zur gesunden Kontrollgruppe liegen keine Werte bezüglich der Lungenfunktionsparameter vor.

Tabelle 16: Forciertes expiratorisches Volumen (FEV1), relative Einsekundenkapazität (FEV1/VC), Residualvolumen (RV) sowie totale Lungenkapazität (TLC) von Patienten mit Sarkoidose (n=10) und den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) (siehe auch Abbildungen 24-27). Angegeben ist der prozentuale Anteil am Sollwert als Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer) Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen der RB-ILD- und Sarkoidose-Gruppe bezüglich der totalen Lungenkapazität (p=0,03). Bezüglich der weiteren Lungenfunktionsparameter gibt es zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Lungenfunktionsparameter	FEV1	FEV1/VC	RV	TLC
RB-ILD	83,60% (24,40% - 121,90%)	89,60% (32,90% - 114,80%)	128,35% (34,00% - 227,50%)	105,80% (79,20% - 135,20%)
RB-ILDH	78,20% (37,10% - 120,50%)	89,40% (48,57% - 115,50%)	112,20% (62,10% - 236,40%)	92,70% (76,80% - 113,80%)
RB-ILDG	82,50% (24,40% - 121,90%)	89,40% (32,90% - 115,50%)	122,80% (34,00% - 236,40%)	97,40% (76,80% - 135,20%)
Sarkoidose	91,05% (43,00% - 110,60%)	98,40% (88,60% - 117,20%)	93,90% (58,50% - 146,30%)	92,85% (63,70% - 101,60%)

Forciertes expiratorisches Volumen

Das FEV1 war bei der Sarkoidose höher als bei der RB-ILD (91% versus 83%) (siehe Tabelle 16/Abbildung 24). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

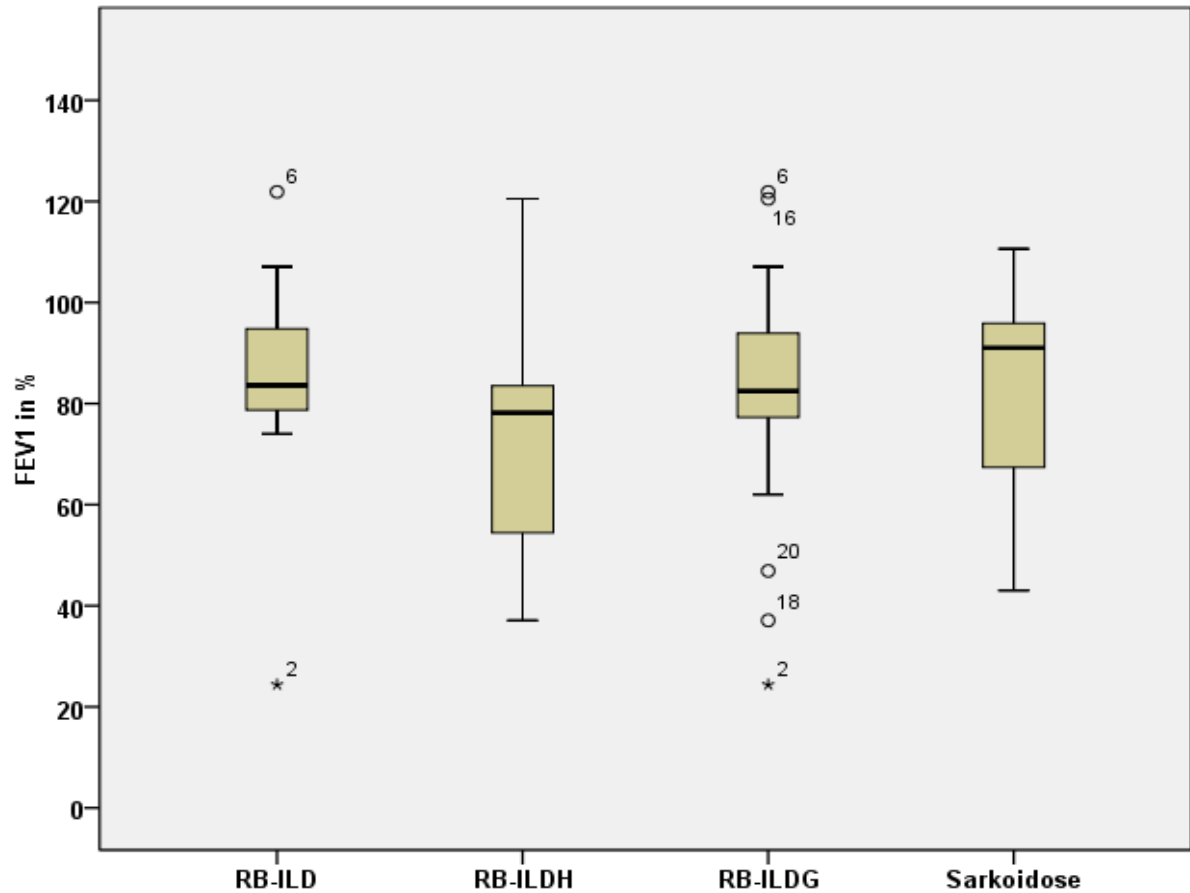


Abbildung 24: Forciertes expiratorisches Volumen (FEV1) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 16). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Relative Einsekundenkapazität

Die relative Einsekundenkapazität betrug bei der RB-ILD 89% und war somit niedriger als bei der Sarkoidose (98%) (siehe Tabelle 16/Abbildung 25). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

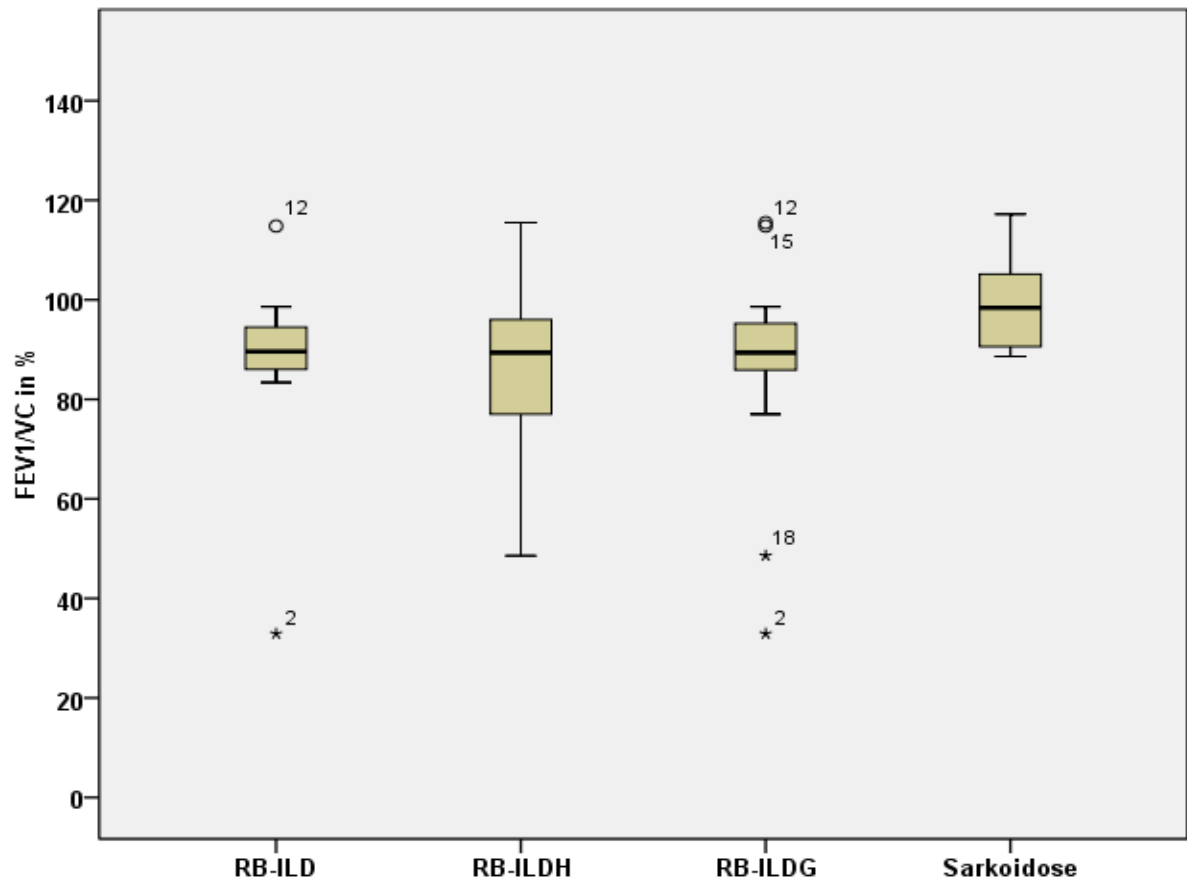


Abbildung 25: Relative Einsekundenkapazität (FEV1/VC) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 16). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Residualvolumen

Das Residualvolumen bei der RB-ILD-Gruppe betrug 123% (histologisch-gesicherte: 112% versus nicht histologisch-gesicherte: 128%), während es bei der Sarkoidose bei 94% lag (siehe Tabelle 16/Abbildung 26). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

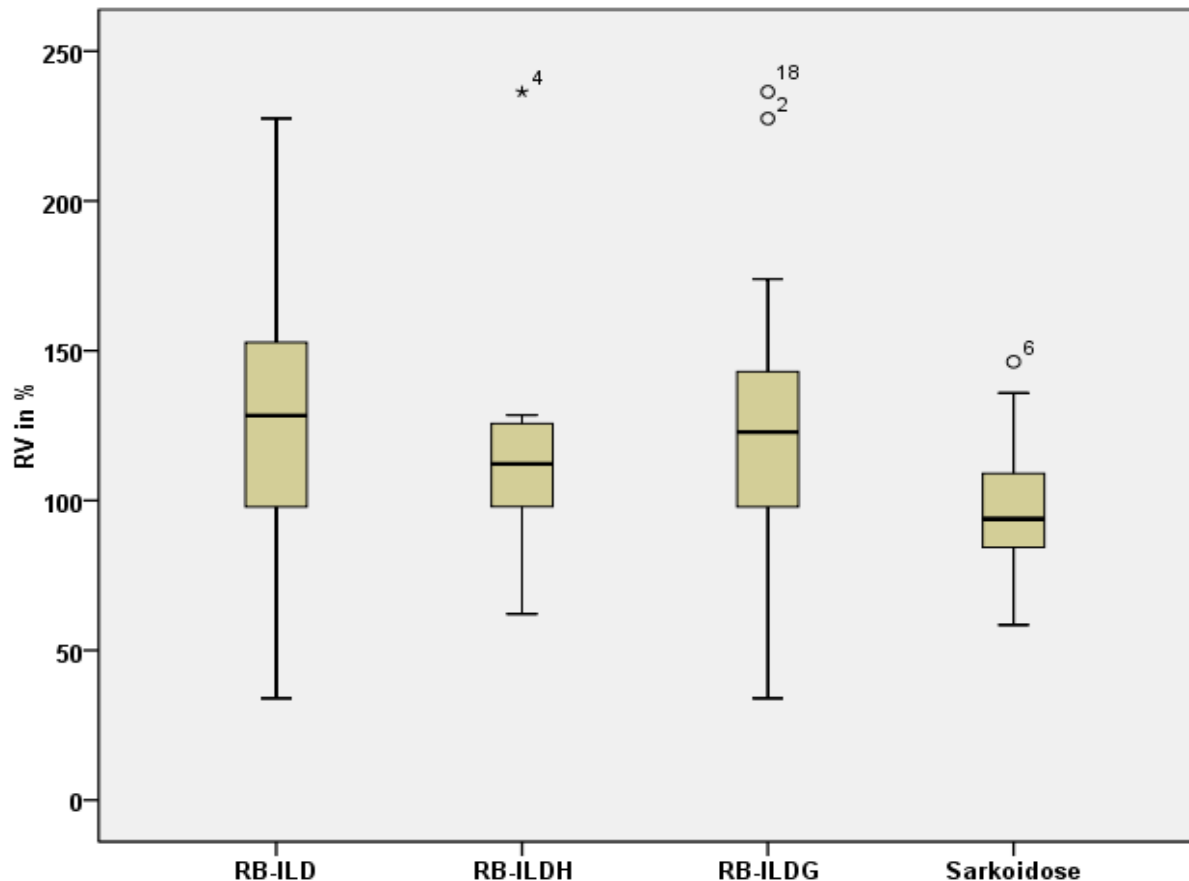


Abbildung 26: Residualvolumen (RV) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 16). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Totale Lungenkapazität

Der Median der TLC betrug bei der RB-ILD 97%, wobei ein tendenziell signifikanter ($p > 0,05$) Unterschied zwischen histologisch-gesicherten und nicht histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten (93% versus 106%) bestand. Die TLC bei der Sarkoidose war mit 93% signifikant niedriger als bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD ($p = 0,03$) (siehe Tabelle 16/Abbildung 27). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

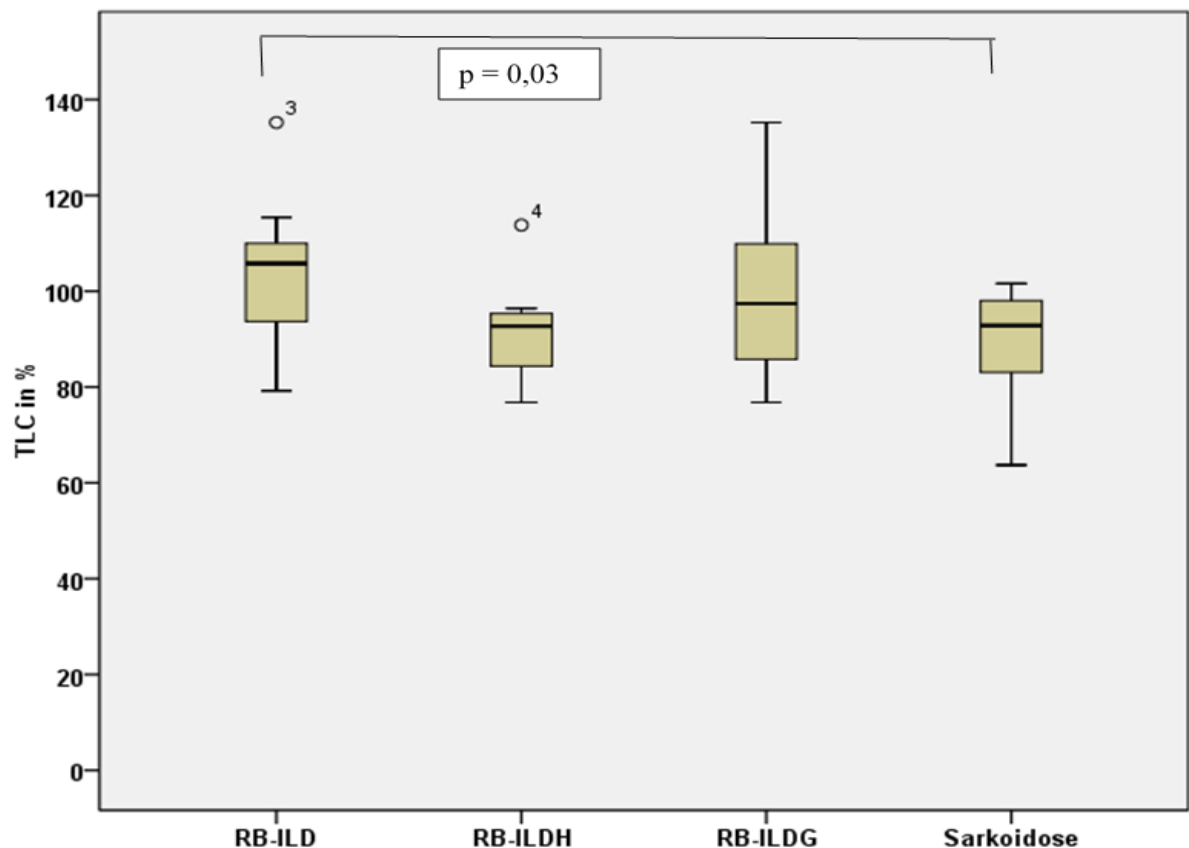


Abbildung 27: Totale Lungenkapazität (TLC) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 16). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind mittels Linien dargestellt. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

Diffusionskapazität

Die Diffusionskapazität aller RB-ILD-Patienten war mit einem Median von 70% erniedrigt und war somit insbesondere bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD nur tendenziell signifikant ($p>0,05$) niedriger als bei Sarkoidose (84%). Die Diffusionskapazität bei der histologisch-gesicherten RB-ILD war mit 85% dagegen nicht-signifikant höher als bei Sarkoidose (siehe Tabelle 17/Abbildung 28).

Tabelle 17: Transferkoeffizient der Patienten mit Sarkoidose sowie der RB-ILD-Gruppen (siehe auch Abbildung 28). Angegeben ist der prozentuale Anteil am Sollwert als Median sowie die Minimal- und Maximalwerte (incl. Ausreißer). Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

Gruppen	Transferkoeffizienten DLCO/VA
RB-ILD nicht-histologisch-gesichert (n=14)	67,90% (48,50% - 107,00%)
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	84,60% (54,20% - 89,50%)
RB-ILD gesamt (n=21)	70,30% (48,50% - 107,00%)
Sarkoidose (n=10)	83,95% (61,00% - 92,60%)

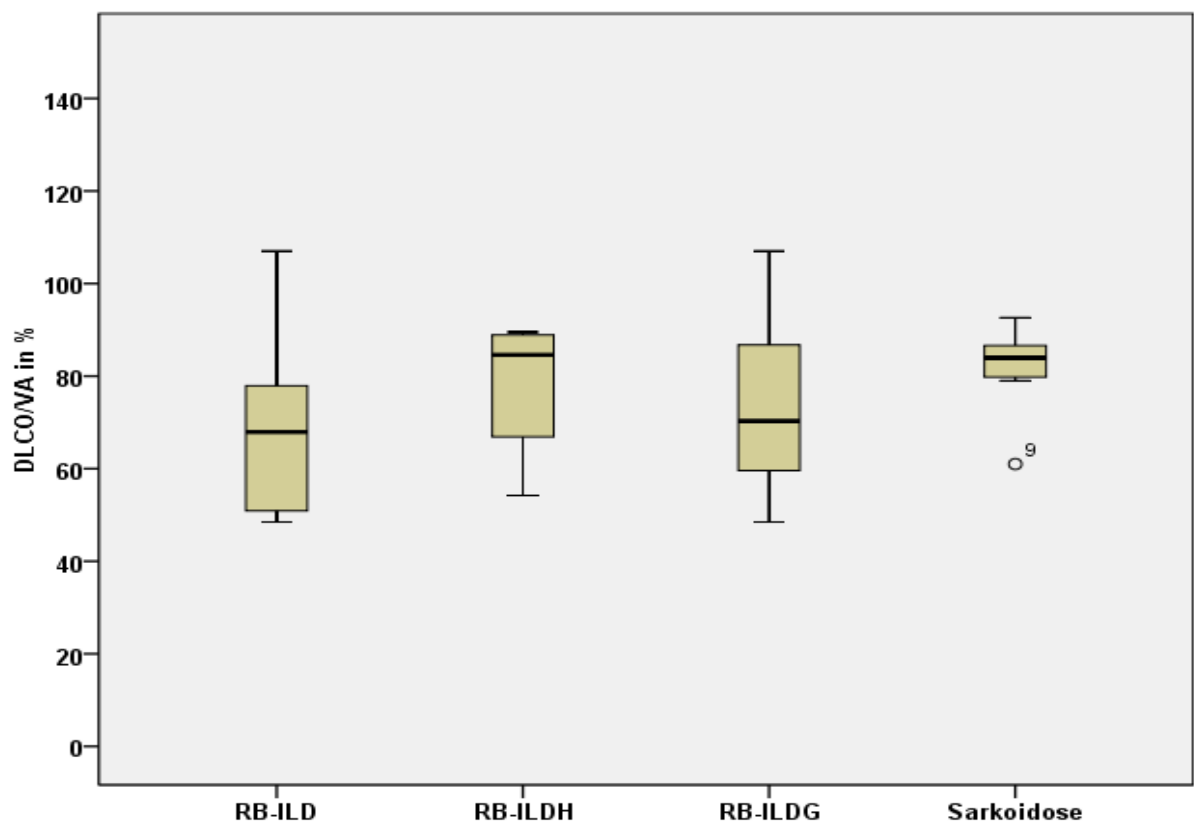


Abbildung 28: Transferkoeffizient (DLCO/VA) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) (siehe auch Tabelle 17). Box: 25% Perzentile bis 75% Perzentile. Whiskers: 10% Perzentile und 90% Perzentile. Median: horizontaler Strich. Ausreißer: einzelne Punkte. Die einzelnen Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant. Als Testverfahren wurde der U-Test nach Mann & Whitney angewendet.

6.5 Hochauflösende Computertomographie (HRCT)

Die HRCT-Aufnahmen der RB-ILD-Patienten sowie der Patienten mit Sarkoidose wurden insbesondere im Hinblick auf das Vorkommen von einem Emphysem, Mosaikmuster, zentrilobulären Noduli sowie einer Lymphadenopathie analysiert.

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt jeweils in Tabellen. Zur gesunden Kontrollgruppe liegen keine HRCT-Befunde vor.

Tabelle 18: Emphysem, Mosaikmuster, zentrilobuläre Noduli und Lymphadenopathie im HRCT bei Patienten mit Sarkoidose und den RB-ILD-Gruppen (siehe auch Abbildungen 29-32). Angegeben ist der prozentuale Anteil, bei welchem die Veränderung vorliegt. Zur gesunden Kontrollgruppe liegen keine HRCT-Befunde vor.

Gruppen	Emphysem	Mosaik-muster	Zentrilobuläre Noduli	Lymphadenopathie
RB-ILD nicht histologisch-gesichert (n=14)	21,00%	64,00%	71,00%	29,00%
RB-ILD histologisch-gesichert (n=7)	14,00%	86,00%	43,00%	29,00%
RB-ILD gesamt (n=21)	19,00%	71,00%	62,00%	29,00%
Sarkoidose (n=10)	0,00%	0,00%	40,00%	60,00%

6.5.1 Emphysem

Bei 21% der nicht histologisch-gesicherten und bei 14% der histologisch-gesicherten RB-ILD lag ein Emphysem vor, welches sich als irreversible Atemwegserweiterung im HRCT darstellte. Bei der Sarkoidose ließ sich kein Emphysem im HRCT nachweisen (siehe Tabelle 18/Abbildung 29).

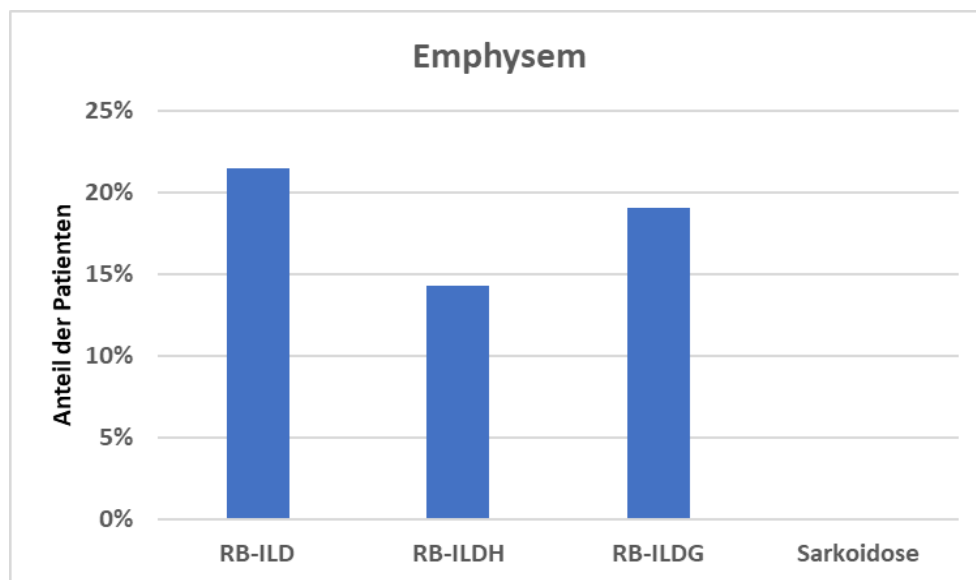


Abbildung 29: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit Emphysem im HRCT (siehe auch Tabelle 18).

6.5.2 Mosaikmuster

Ein Mosaikmuster im CT zeigte sich bei der RB-ILD bei 71%. Dabei war es bei den histologisch-gesicherten Fällen häufiger nachzuweisen als bei nicht histologisch-gesicherter Erkrankung (86% versus 64%). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Bei der Sarkoidose war kein Mosaikmuster zu erkennen (siehe Tabelle 18/Abbildung 30).

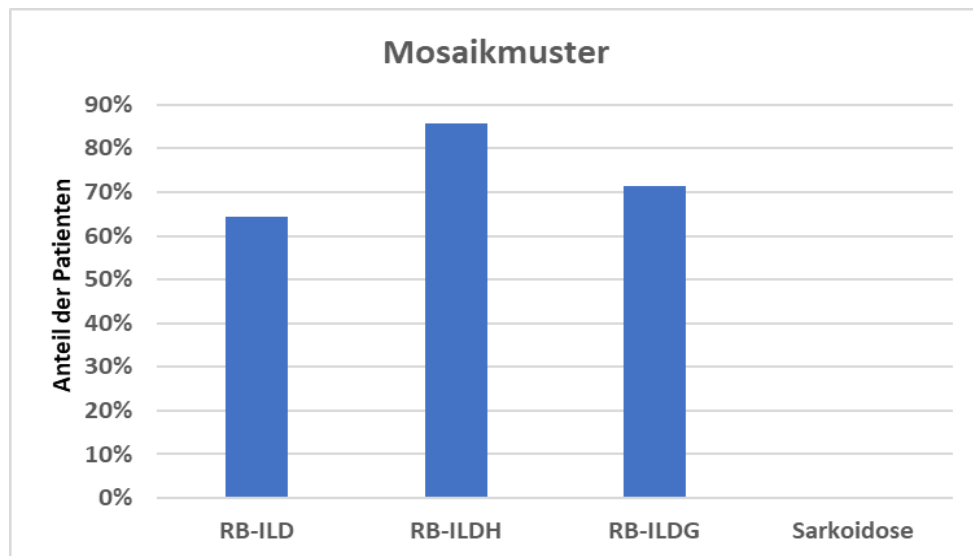


Abbildung 30: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit Mosaikmuster im HRCT (siehe auch Tabelle 18).

6.5.3 Zentrilobuläre Noduli

Zentrilobuläre Noduli fanden sich bei der RB-ILD in 62%. Während diese bei nicht histologisch-gesicherter RB-ILD in 71% vorlagen, waren es bei histologisch-gesicherter RB-ILD 43%. Bei der Sarkoidose wiesen 40% der Patienten zentrilobuläre Noduli auf (siehe Tabelle 18/Abbildung 31).

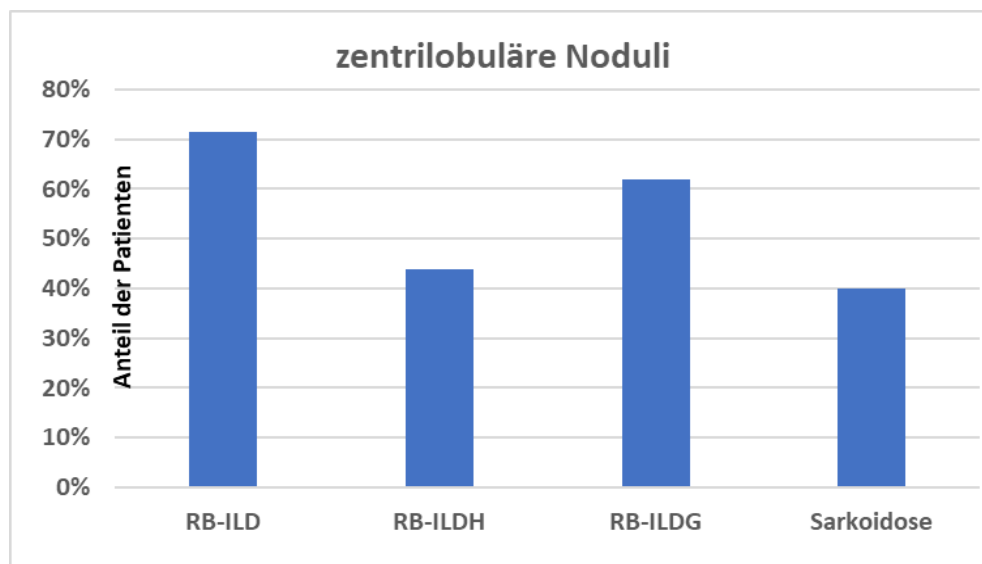


Abbildung 31: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit zentrilobulären Noduli im HRCT (siehe auch Tabelle 18).

6.5.4 Kombiniertes Auftreten mehrerer HRCT-Veränderungen

Bei 11 von 14 Patienten (79%) mit nicht histologisch-gesicherter RB-ILD und bei 4 von 7 Patienten (57%) mit histologisch-gesicherter RB-ILD traten mindestens zwei der untersuchten HRCT-Veränderungen auf. Sowohl zentrilobuläre Noduli als auch ein Mosaikmuster im HRCT zeigten sich bei 5 von 14 Patienten (36%) mit nicht histologisch-gesicherter RB-ILD sowie bei 2 von 7 Patienten (29%) mit histologisch-gesicherter RB-ILD. Somit traten bei einem Drittel aller Patienten mit einer RB-ILD beide Veränderungen auf.

6.5.5 Lymphadenopathie

Eine Lymphadenopathie zeigte sich bei 60% aller Sarkoidose-Patienten im HRCT. Bei der RB-ILD lag bei 29% eine Lymphadenopathie vor (siehe Tabelle 18/Abbildung 32).

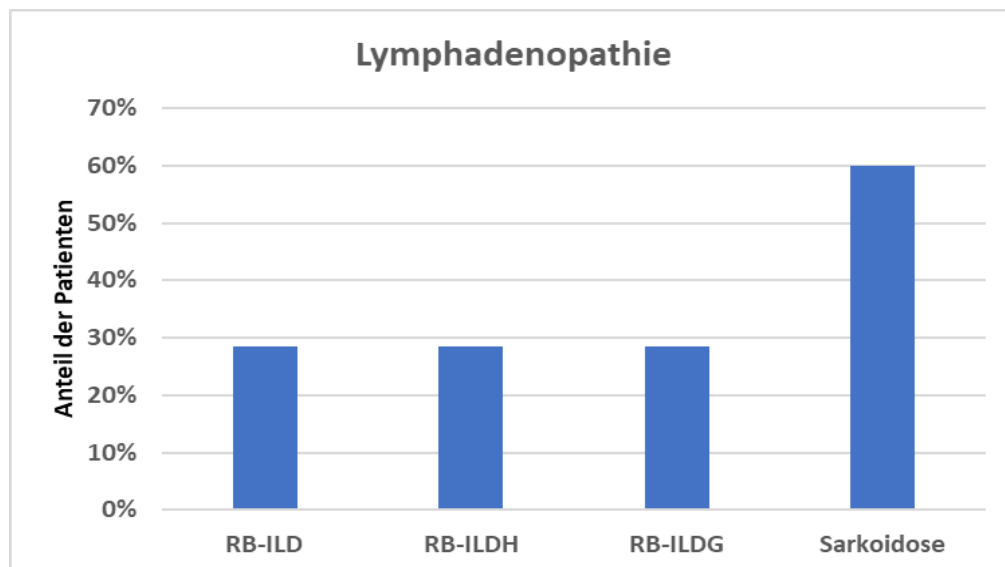


Abbildung 32: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD=nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG=RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit Lymphadenopathie im HRCT (siehe auch Tabelle 18).

6.5.6 Weitere Veränderungen im HRCT

Bei der RB-ILD zeigte sich zudem bei jeweils einem Patient Milchglastrübungen sowie einmal ein Tree-in-Bud-Zeichen.

Bei der Sarkoidose zeigte das HRCT bei vier Patienten Konsolidierungen, zwei Mal ein Tree-in-Bud-Muster sowie retikuläre Veränderungen und einmal Milchglastrübungen.

Bei zwei Patienten, bei denen ein Nikotinabusus vorlag und sich erhöhte NKT-Zellen sowie Pigmentmakrophagen in der BAL zeigten, konnten keine für eine Bronchiolitis typischen

HRCT-Veränderungen beobachtet werden. Daher konnte bei diesen Patienten anhand der Bildgebung keine RB-ILD diagnostiziert werden und sie wurden somit nicht in die Studie aufgenommen. Bei einem dieser Patienten zeigte sich ein unauffälliger HRCT Befund, bei dem anderen eine kleine Emphyseblase sowie Wandverdickungen wahrscheinlich entzündlicher Genese.

7 Diskussion

Zu den häufigsten Ursachen entzündlicher Veränderungen der kleinen Atemwege gehört der chronische Zigarettenabusus. Dieser führt zu einer Entzündung der kleinen Atemwege bereits vor der Manifestation eines Emphysems. Diese Entzündung wird als Respiratorische Bronchiolitis (RB) bezeichnet. Die RB ist neben der obstruktiven Bronchitis und dem Emphysem eine weitere regelmäßige Manifestationsform der COPD in der Lunge (Abbildung 34). Das prominente histologische Bild der RB ist die bronchiolozentrische Akkumulation der pigmentierten Makrophagen, die sich in Clustern anordnen. Erstreckt sich die alveoläre Akkumulation der pigmentierten Makrophagen von den peribronchiolären Zonen bis in die Peripherie unter Aussparung der Alveolen spricht man von einer Respiratorischen Bronchiolitis-Interstitiellen Lungenerkrankung (RB-ILD) (Katzenstein 2012, Sieminska und Kuziemski 2014). Diese Erkrankung geht auch mit Symptomen und radiologischen sowie lungenfunktionellen Veränderungen einher. Ist der gesamte Lobulus betroffen, liegt eine Desquamative Interstitielle Pneumonie (DIP) vor (Tazelaar et al. 2011). Da RB, RB-ILD und DIP in den meisten Fällen auf einen Zigarettenkonsum zurückgehen, werden sie unter dem Oberbegriff der raucherassoziierten Erkrankungen zusammengefasst (Tabelle 1).

Zahlreiche Aspekte der entzündlichen Erkrankung der kleinen Atemwege sind bisher unbekannt. Die radiologischen Veränderungen werden zwar auf eine histologisch nachweisbare lokale Akkumulation von Rauchermakrophagen und Mukushypersekretion mit Obstruktion zurückgeführt. Die Bedeutung der bei Rauchern beobachteten Pigmentmakrophagen im Hinblick auf die RB-ILD ist jedoch nicht bekannt. In diesem Zusammenhang ist ebenfalls unklar, ob Pigmentmakrophagen mit den krankheitsspezifischen Veränderungen bei RB-ILD korrelieren bzw. allein dafür verantwortlich sind. Sind die Pigmentmakrophagen Ausdruck einer bronchiolitischen Entzündung oder handelt es sich um eine eigenständige reaktive Veränderung des mononukleären Phagozytensystems der Lunge? Ferner ist unklar, ob die raucherassoziierte Bronchiolitis mit einer definierten bronchoalveolären Entzündungsreaktion einhergeht, die durch ein definiertes immunzelluläres Muster charakterisiert ist. Sollte das der Fall sein, stellt sich die Frage, ob das zelluläre Entzündungsmuster mit der Bildgebung und der Lungenfunktion korrespondiert. Schließlich könnten sich aus der Untersuchung möglicherweise auch Rückschlüsse auf die Pathogenese der RB-ILD ziehen lassen. Es ist bisher nicht bekannt, ob und inwieweit die RB-ILD den Verlauf der COPD bis hin zur Entwicklung einer schweren Erkrankung mit Emphysem bestimmt. Möglicherweise bildet die Pathogenese der RB-ILD einen Schlüssel zum Verständnis der pathogenetischen Prozesse für andere

Manifestationen der COPD. Neben dem pathogenetischen Aspekt stellt sich aber auch die Frage, ob sich aus der bronchoalveolären Zellverteilung der RB-ILD Rückschlüsse für die Diagnose der Erkrankung mittels der BAL-Differential- und Immunzytologie ergeben.

7.1 Definition eines charakteristischen bronchoalveolären Zellmusters bei RB-ILD

Vor diesem Hintergrund beschäftigte sich die vorgelegte Untersuchung mit der Analyse der BAL-Zellen von Patienten mit RB-ILD und verglich diese mit dem Muster bei Sarkoidose und bei gesunden Nichtrauchern.

Die aktuelle Untersuchung zeigte bei 18 von 21 RB-ILD-Patienten eine signifikante Expansion der NKT-Zellen um ein Vielfaches gegenüber Gesunden und Sarkoidose-Patienten meist in Kombination mit einer Vermehrung von vier bzw. fünf weiteren untersuchten Zellen (insbesondere Pigmentmakrophagen gefolgt von $CD4^+CD25^+$ T-Zellen, B-Zellen und $CD8^+$ T-Zellen). Es ließen sich bei der RB-ILD Pigmentmakrophagen nachweisen, während sie bei Patienten mit Sarkoidose und den gesunden Kontrollen fehlten. Bei 16 von 21 RB-ILD-Patienten fanden sich sowohl NKT-Zellen als auch Pigmentmakrophagen in der BAL. Ferner war bei Patienten mit RB-ILD eine signifikante Vermehrung der B-Zellen erkennbar, welche um das 1,5fache über den Zahlen der Vergleichsgruppen lag. Es zeigte sich eine deutliche Expansion der $CD4^+CD25^+$ T-Lymphozyten um das 2- bis 3fache gegenüber Gesunden und um das 3- bis 4fache gegenüber den Patienten mit Sarkoidose. Gleichzeitig waren die $CD8^+$ T-Lymphozyten verglichen mit den Kontrollgruppen vermehrt und die $CD4^+$ T-Lymphozyten vermindert, so dass der CD4/CD8-Quotient verglichen mit den Gesunden niedrig ausfiel. Schließlich lag der relative Anteil der $CD4^+CD103^+$ T-Lymphozyten bei den Patienten mit RB-ILD über den Kontrollen.

Im Gegensatz zur BAL zeigten sich im Blut keine signifikanten numerischen Änderungen der verschiedenen Leukozyten-Subpopulationen.

7.2 Bedeutung des bronchoalveolären Zellmusters für die Pathogenese der RB-ILD

Da es sich bei der BAL um eine bronchoalveoläre Spülung handelt, gewinnt man hiermit Zellen aus den bronchiolären und alveolären Kompartiment der Lunge. Die in der Studie ermittelte Verteilung und die selektive Expansion einzelner Zelltypen lassen näherungsweise Rückschlüsse auf die Vorgänge zu, die der Pathogenese der RB-ILD zugrunde liegen.

Die Ergebnisse legen zusätzlich nahe, dass es sich bei einer RB-ILD um eine entzündliche Erkrankung handelt. Dafür sprechen die selektive Vermehrung der NKT-Zellen, die deutliche

Vermehrung der B-Zellen, die Expansion aktivierter $CD4^+CD25^+$ T-Lymphozyten, aber auch die Dominanz der $CD8^+$ T-Lymphozyten. Eine Vermehrung dieser Zelltypen kommt bei aktiven Entzündungsprozessen z.B. im Rahmen einer EAA oder einer COP vor.

Versucht man das in dieser Untersuchung ermittelte zelluläre Muster zu ordnen finden sich bei der RB-ILD Hinweise sowohl für

1. eine unspezifische bzw. angeborene Immunreaktion als auch
2. eine spezifische Immunreaktion (Abbildung 33).

7.2.1 RB-ILD als unspezifische bronchoalveoläre Entzündung

Makrophagen: Die Ergebnisse zeigen eine maximale Vermehrung der Makrophagen auf Werte bis >60% aller Zellen bei RB-ILD. Das steht im Einklang mit der bei leichter bis moderat-stabiler COPD beobachteten erhöhten Zahl an Makrophagen in der Atemwegsmukosa (Aleksioniene et al. 2017, Barnes 2014, Caramori et al. 2011, Hogg und Timens 2009). Dabei nimmt die Zellzahl mit dem Schweregrad der Erkrankung zu (Hogg 2004). Die Ursache hierfür ist nicht eindeutig geklärt. Jedoch könnte die Vermehrung der Makrophagen bei COPD auf die reduzierte Fähigkeit der Makrophagen zur Phagozytose bzw. Verarbeitung von phagozytiertem Material zurückzuführen sein (Brusselle und Bracke 2014). Ferner spielen Makrophagen-stimulierende Faktoren eine Rolle (siehe Einleitung).

Die Akkumulation Pigment-beladener Makrophagen gilt als charakteristische Veränderung bei Rauchern. Makrophagen fungieren als Phagozyten, die feste, nicht lösliche Partikel aus dem Zigarettenrauch (Rußpartikel) durch Phagozytose binden, um diese zu beseitigen. Partikel-assoziierte Substanzen werden anschließend soweit wie möglich durch zelluläre Enzyme gespalten. Nicht weiter zerlegbare Partikel werden in den Vakuolen gespeichert. Diese Speicherung von Rußpartikel führt zu der typischen gelb-bräunlichen Verfärbung der Zellen bzw. der schmutzig bräunlichen Verfärbung der zurückgewonnenen Lavage-Flüssigkeit. Hierbei spricht man aufgrund der bereits makroskopisch erkennbaren zytoplasmatischen Einschlüsse von sog. „Pigmentmakrophagen“. Ob es sich bei dem Vorkommen von Pigmentmakrophagen um eine unspezifische, nicht-immunologische Reaktion der Lunge handelt, ist bisher nicht vollständig geklärt.

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass sich bei der RB-ILD eine erhöhte Zahl der Pigmentmakrophagen findet, wie es bereits bei Rauchern mehrfach beschrieben wurde (Choux et al. 1978, Costabel und Guzman 1992, Goeckenjan 2003). Es stellt sich letztendlich die Frage, in wie weit die Pigmentmakrophagen an der Orchestrierung der bronchiolitischen Entzündung

durch die Freisetzung pro-entzündlicher Mediatoren (Proteasen, Zytokinen, Chemokinen und Oxidantien) beteiligt sind (Barnes 2014, Caramori et al. 2011, Hogg und Timens 2009).

Unveröffentlichte Beobachtungen legen nahe, dass sich die Zahl der Pigmentmakrophagen nach Zigarettenabstinenz innerhalb von einem Jahr wieder normalisiert (C. Kroegel). Dass das Auftreten der Pigmentmakrophagen reversibel ist, konnte auch in vorausgegangenen Studien gezeigt werden (Nakanishi et al. 2007, Portnoy et al. 2007, Fraig et al. 2002).

In der hier vorgestellten Studie fiel allerdings ein Patient mit 5% Pigmentmakrophagen auf, der nach eigenen Angaben seinen 10-jährigen Nikotinabusus vier Monate vor der BAL eingestellt habe. Ob die Angaben des Patienten korrekt waren, ließ sich nicht prüfen. Umgekehrt zeigten sich bei zwei histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten trotz anamnestischer Angabe eines Nikotinabusus keine pigmentierten Makrophagen in der BAL. Auch hierfür ließ sich keine Erklärung finden, da die Patienten zum Zeitpunkt der Analyse nicht mehr verfügbar waren. Möglicherweise waren die Patienten zum Untersuchungszeitpunkt bereits Nichtraucher. Eine alternative Erklärung wäre, dass bei einzelnen Patienten möglicherweise effizientere Mechanismen gegen Noxen wirksam sind, die zu einer schnellen Elimination der Pigmentmakrophagen führen (Marten 2007, Fraig et al. 2002). Eine andere Erklärung für die Beobachtung könnte sein, dass bei einzelnen Patienten ein Phagozytose-Defekt der Makrophagen besteht, so dass Staub- und Rußpartikel nicht aufgenommen werden können.

NKT-Zellen: Neben den Pigmentmakrophagen zeigen die Ergebnisse der hier vorgelegten Untersuchung eine signifikante Expansion der Natürlichen Killer T-Zellen (NKT-Zellen). NKT-Zellen bilden eine Subgruppe von Lymphozyten, die sowohl T-Zell- als auch NK-Zell-Eigenschaften vereinen (Papakosta et al. 2014). Diese Zellen werden in Verbindung mit den nicht polymorphen CD1-Molekülen durch endogene oder exogene Liganden aktiviert und tragen signifikant zur Entwicklung von infektiösen und autoimmunen Erkrankungen bei (Torina et al. 2018). Sie regulieren hierbei die Immunreaktion durch die Modulation der Th1/Th2-Balance und produzieren nach Antigenexposition Zytokine beider Th-Zelltypen (T-Helfer-Zellen). Da CD1d die Antigenpräsentation von Lipid-, Lipopeptid- und Glykolipid-Antigenen vermittelt, ließe sich die deutliche Zunahme der NKT-Zellen bei RB-ILD als Hinweis für die Beteiligung adaptiver Immunmechanismen im Rahmen dieser Erkrankung verstehen.

NKT-Zellen kommen im Blut, dem Bronchoalveolarraum und dem Sputum von Patienten mit COPD vermehrt vor (Hodge et al. 2013, Urbanowicz et al. 2010, Wang et al. 2013) und sind neben Th17-T-Zellen potente Produzenten von Interleukin IL-17A, während Makrophagen und

Neutrophile kein IL-17A bilden (Park et al. 2005, Pichavant et al. 2014). NKT-Zellen setzen das IL-17A-Protein unter Zigarettenrauch-Exposition frei (Bozinovski et al. 2015), so dass hier ein direkter pathogenetischer Zusammenhang der NKT-Zellen bei RB-ILD möglich ist.

IL-17A kommt eine Rolle als pro-entzündliches Zytokin an der Grenze zwischen dem angeborenen und adaptiven Immunsystem zu (Ouyang et al. 2008). Es induziert z.B. die Freisetzung sekundärer pro-inflammatorischer Chemokine und Wachstumsfaktoren aus epithelialen und mesenchymalen Zellen (Laan et al. 1999), fördert die Einwanderung von Makrophagen in die Atemwege und erhöht deren Überlebenszeit (Sergejeva et al. 2005). Daher könnten NKT-Zellen über den IL-17A-abhängigen Weg zur Vermehrung der Makrophagen bei RB-ILD und COPD beitragen. Tiermodelle zeigten zudem, dass die genetische Ablation des IL-17A-Rezeptors in Zigarettenrauch-exponierten Mäusen die Entwicklung eines Emphysems verhindert (Chen et al. 2011). Diese Beobachtung legt daher die Möglichkeit nahe, dass NKT-Zellen direkt oder indirekt über die Produktion von IL-17A zur Entstehung des Emphysems beitragen. In diesem Falle könnte die RB-ILD eine Vorstufe der schweren Verlaufsform der COPD darstellen.

7.2.2 RB-ILD als spezifische immunologische Erkrankung

Wie bereits anhand der potenziellen Funktion der vermehrt auftretenden NKT-Zellen angedeutet, bieten die Ergebnisse der Untersuchung auch Hinweise für die Beteiligung des adaptiven Immunsystems bei der RB-ILD. Hierfür spricht vor allem die Vermehrung der B-Zellen und CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten, aber auch die Expansion der CD8⁺T-Lymphozyten und CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten.

CD8⁺-T-Lymphozyten: Die hier bei Patienten mit RB-ILD beobachtete Dominanz der CD8⁺T-Lymphozyten bzw. der niedrige CD4/CD8-Quotient ist grundsätzlich mit Rauchen, Atemwegsobstruktion und Lungenemphysem assoziiert (Barnes 2014, Hogg und Timens 2009). Selbst Raucher mit normaler Lungenfunktion zeigen eine vermehrte Zahl an CD8⁺T-Zellen, so dass deren Expansion offenbar eine konsistente Veränderung bei Rauchern bzw. COPD-Patienten darstellt und daher nicht spezifisch für die RB-ILD ist (Costabel und Guzman 1992, Di Stefano et al. 2001, Di Stefano et al. 2002, Postman et al. 2014).

Die Ursache für die Prädominanz der CD8⁺T-Lymphozyten bzw. deren funktionelle Bedeutung für die Pathogenese der COPD ist bisher jedoch noch nicht eindeutig identifiziert. Es ist denkbar, dass die Vermehrung der CD8⁺T-Lymphozyten direkt auf die Exposition gegenüber

dem Zigarettenrauch zurückgeht. Andererseits ist aber auch indirekt eine Proliferation der Zellen im Rahmen der durch Zigarettenrauch ausgelösten bronchoalveolären Entzündung nicht auszuschließen. Dabei könnte bei Rauchern mit leicht bis moderater COPD die verminderte Apoptose von CD8⁺T-Lymphozyten eine Rolle spielen (Siena et al. 2011).

Ein Drittel der CD8⁺T-Lymphozyten aus der BAL und dem Sputum von COPD-Patienten sind aktiviert und exprimieren den sog. Nuclear Factor-kappa B (NF-κB), STAT-4 und Interferon (IFN)-gamma (Hogg und Timens 2009, Tzanakis et al. 2004). Diese Zellen sind reifer und vermitteln eine gesteigerte Gewebezytotoxizität (Barcelo et al. 2008). In der BAL befinden sich ferner CD8⁺CD45R0⁺T-Zellen, die nach Antigen-Kontakt entstehen und somit auf eine vorausgegangene spezifische immunologische Aktivierung hinweisen. Zusammengenommen deuten die oben genannten Beobachtungen darauf hin, dass beim Rauchen zumindest ein Teil der bronchoalveolären Zellen durch einen Antigenkontakt aktiviert wurde und unterstreicht damit die Beteiligung des adaptiven Immunsystems bei verschiedenen Manifestationen der COPD. Auch wenn der Aktivierungsstatus der CD8⁺T-Zellen in der vorgelegten Arbeit nicht untersucht wurde, legen die hier präsentierten Daten den Schluss nahe, dass es auch bei der RB-ILD zu einer spezifischen Immunreaktion kommt.

CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten: Wenn es bei der RB-ILD zu einer spezifischen Immunreaktion kommt, müssten sich auch Hinweise für eine Aktivierung der CD4⁺T-Lymphozyten finden. CD4⁺T-Zellen bilden eine der zentralen Säule der adaptiven Immunität. Sie differenzieren sich über einen MHC-abhängen Prozess mit dendritischen Zellen nach Antigen-Kontakt zu sog. Th1- oder Th2-Zellen. Während ein Teil als pro-inflammatorische „Helfer“-Zellen pro-entzündliche Zytokine produziert (vor allem IL-2 und IFN-gamma), entwickelt sich eine Untergruppe der CD4⁺T-Lymphozyten zu Zellen mit einer Suppressorzellfunktion, den CD25-exprimierenden sog. Typ 1 regulatorischen T-Zellen. Diese sezernieren überwiegend das immunsuppressive Zytokin IL-10 und exprimieren den Transkriptionsfaktor FoxP3. Auch wenn im Rahmen der hier vorgelegten Untersuchung die Zahl der FoxP3-exprimierenden Zellen nicht untersucht wurde, darf man annehmen, dass ein Teil der bronchoalveolären CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten bei RB-ILD ebenfalls eine T-regulatorische Funktion besitzt (Sakaguchi 2011). Wie am Beispiel einer autoimmunologischen Arthritis gezeigt werden konnte, kommt es im Rahmen von Autoimmunopathien ebenfalls zu einer Vermehrung der defekten regulatorischen T-Zellen (Brusselle und Bracke 2014).

Bei den Patienten mit RB-ILD zeigte sich eine deutliche Expansion der CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten (im Median 18%), wie sie nur selten bei anderen Lungenerkrankungen gefunden

wird. Verglichen mit den Kontrollen (Gesunde: 9% bzw. Sarkoidose: 5%) liegt der relative Anteil der CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten in der BAL bei RB-ILD signifikant um 10% höher. Die Vermehrung der CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten ist ein weiterer Hinweis für die Aktivierung einer adaptiven Immunreaktion bei RB-ILD.

CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten: Der relative Anteil der CD4⁺CD103⁺-T-Zellen an der Gesamtlymphozytenzahl ist bei einem manifesten Emphysem im Rahmen einer COPD und bei einer manifesten Fibrose (meist IPF/UIP) erhöht (Braun et al. 2003, Ferchland et al. 2001). Auch bei der RB-ILD zeigt sich eine Vermehrung dieser Zellpopulation auf 36% verglichen mit den Gesunden (24%) und der Sarkoidose (22%). Das CD103-Oberflächenantigen ist Teil des Integrin-Komplexes α E (CD103) β 7 auf T-Zellen, über den die Lymphozyten an das E-Cadherin auf Epithelzellen binden und anschließend transmigrieren. Daher ist die Zahl der CD4⁺CD103⁺- und CD8⁺CD103⁺T-Zellen in der bronchoalveolären Lavage generell höher als im Blut (Glader et al. 2005, Rihs et al. 1996, Wiken et al. 2012). Die Zellen produzieren außerdem TNF-alpha, IFN-gamma sowie Interleukin-10 (Braun et al. 2003).

Die hier beobachtete Vermehrung der CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten ergänzt nicht nur vorausgegangene Untersuchungen, die eine Expansion von CD103-exprimierenden CD8⁺-T-Zellen beobachtet haben (Braun et al. 2003, Mikko et al. 2013, Rihs et al. 1996). Sie geht vielmehr über diese Studien hinaus und zeigt, dass auch CD103-exprimierende CD4⁺T-Lymphozyten im Bronchoalveolarraum zumindest im Rahmen der RB-ILD expandieren. Die Patienten mit nicht histologisch-gesicherter RB-ILD zeigten verglichen mit den anderen Gruppen nicht nur den größten Anteil dieser Zellen in der BAL (39%), sondern waren auch die Gruppe mit der höchsten Manifestationsrate eines Emphysems (21%). Dies verdeutlicht den Zusammenhang zwischen der Vermehrung der CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten und der Manifestation eines Emphysems. Ferner war zu beobachten, dass in dieser Gruppe die Diffusionskapazität am stärksten eingeschränkt war (68%), was mit dem Vorliegen eines Emphysems vereinbar ist. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen somit, dass die RB-ILD eine Erkrankung darstellt, die mit einem Emphysem einhergehen kann.

B-Zellen: Die B-Zellen sind bei den RB-ILD-Patienten im Vergleich zu den Gesunden im Median bis auf das Doppelte erhöht; verglichen mit der Sarkoidose sogar um das 5fache.

B-Lymphozyten bei COPD-Patienten zeigen eine polyklonale Aktivierung, was auf eine Antigen-spezifische Immunreaktion hindeutet (van der Strate et al. 2006). Es ist jedoch nicht bekannt, welches Antigen hierfür verantwortlich ist, wobei mikrobielle Antigene,

Zigarettenrauch-assoziierte Antigene oder Antigene des extrazellulären Matrixabbaus in Frage kommen. Die Vermehrung der B-Zellen könnte auf die Expression des B-Zell-Aktivierungsfaktors (BAFF) zurückgehen, der sich innerhalb von entzündlichen Follikeln sowie um CD4⁺T-Zellen, dendritische Zellen und retikuläre Fibroblasten bei schwerer und sehr schwerer COPD sowie bei Patienten mit Emphysem vermehrt nachweisen lässt (Faner et al. 2016, Polverino et al. 2015, Seys et al. 2015). BAFF fördert die Reifung und erhöht das Überleben von B-Zellen. Ähnliche Mechanismen wären auch bei der RB-ILD denkbar.

7.2.3 RB-ILD als Autoimmunkrankheit

Seit einiger Zeit wird diskutiert, ob die COPD und die Entwicklung des Emphysems auf eine immunologische Ursache zurückgeht. So lassen sich z.B. viele Parallelen zwischen COPD und Rheumatoider Arthritis (RA) erkennen. Zunächst gilt der chronische Nikotinabusus nicht nur als Risikofaktor für die COPD (Fletcher und Peto 1977) und die RB-ILD, sondern auch für die Rheumatoide Arthritis. Darüber hinaus ist bei der RA nach Triggerung des immunologischen Prozesses die Erkrankung selbst-perpetuierend (Toivanen 2001), was an die fortbestehende Atemwegsentzündung nach Beendigung des chronischen Nikotinabusus bei COPD-Patienten erinnert (Portnoy et al. 2007, Turato et al. 1995). Ferner kommt es sowohl bei der RA als auch bei der COPD zu einem schubweisen Verlauf mit Exazerbationen ohne erkennbare Ursache (Retamales et al. 2001). Schließlich bestehen Parallelen zwischen der Pathogenese der RA und der COPD (Koetz et al. 2000, Saetta et al. 2001), sowohl im Hinblick auf die Beteiligung pro-entzündlicher Zellen (Neutrophilen, Makrophagen und T-Lymphozyten) als auch humoraler Faktoren (wie den Zytokinen Tumor Necrosis Factor (TNF), Interleukin IL-6 und IL-8 bzw. Chemokinrezeptoren (CCR5, CXCR3) sowie Wachstumsfaktoren (VEGF)) (Barnes 2014, Taylor 2005).

Andere Arbeiten zeigten, dass CD4⁺T-Zell-abhängige Mechanismen unter Beteiligung von Anti-Elastin-Antikörpern zur Zerstörung der Alveolarsepten und somit zur Entwicklung eines Emphysems führen können (Lee et al. 2007, Taraseviciene-Stewart et al. 2005).

Die zelluläre Grundlage der RA ist ein immunologischer Defekt der regulatorischen CD4⁺ T-Lymphozyten (T_{reg}) in der synovialen Flüssigkeit von RA-Patienten, die das CD25-Antigen exprimieren (Cao et al. 2003, Morgan et al. 2003). Die Zahl der T-Zellen ist bei der RA in der Synovialflüssigkeit deutlich höher als im Blut. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass (1) lokale Gewebezellen den immunologischen Defekt tragen (Cao et al. 2003)

und (2) eine Beziehung zwischen regulatorischen $CD4^+CD25^+$ T-Zellen und der autoimmunen Arthritis besteht.

Die in dieser Studie bei der RB-ILD beobachtete deutliche Expansion des $CD4^+CD25^+$ T-Zellsubtyps könnte ebenfalls Ausdruck einer defekten Funktion von T_{regs} sein. Eine Dysfunktion dieser Zellen hat eine Störung der Toleranzmechanismen zur Folge und kann Grundlage von Autoimmunopathien sein. Die Eigenschaft dieser Zellen wurde im Rahmen der Arbeit allerdings nicht untersucht, da die Studie nicht in diese Richtung zielte. In Anbetracht der zunehmenden Hinweise von autoimmunologischen Vorgängen bei der COPD (Brusselle und Bracke 2014) bildet dieser Ansatz jedoch einen interessanten Zugang der zukünftig weiter z.B. durch die Expression von FoxP3 untersucht werden sollte. Die Expansion der $CD4^+CD25^+$ T-Zellen und deren Rolle bei Autoimmunerkrankungen unterstützt die hier dargelegte Hypothese, dass es sich auch bei der raucherassoziierten RB-ILD um eine immunologische Erkrankung handelt bei der adaptive Immunmechanismen eine Rolle spielen.

7.3 Pathogenese der RB-ILD

Wie oben dargestellt lassen die hier präsentierten Ergebnisse gewisse Rückschlüsse auf die immunologische Ursache der Pathogenese raucherassoziiierter Lungenerkrankungen wie der RB-ILD oder COPD zu und zeigen eine Aktivierung sowohl des angeborenen als auch des spezifischen Immunsystems.

Die Vermehrung der $CD8^+$ T-Zellen, der B-Zellen und der $CD4^+CD25^+$ -T-Zellen liefert die stärksten Hinweise auf eine aktive entzündliche Komponente im Sinne einer Aktivierung der adaptiven Immunität, während die Vermehrung der NKT-Zellen Zeichen einer Beteiligung der angeborenen Immunität darstellt (Abbildung 33).

Dieser Aspekt steht zudem im Einklang mit der Beobachtung, dass es sich bei der COPD um eine Systemreaktion handelt (Evans und Morgan 2014). So finden sich bei der COPD im Blut Zeichen einer systemischen Entzündung, die als Verbindung zwischen COPD und assoziierten extrapulmonalen Komorbiditäten angesehen wird, wie beispielsweise kardiovaskulären Erkrankungen, Skelettmuskeldysfunktionen, Diabetes oder Osteoporose (MacNee 2013).

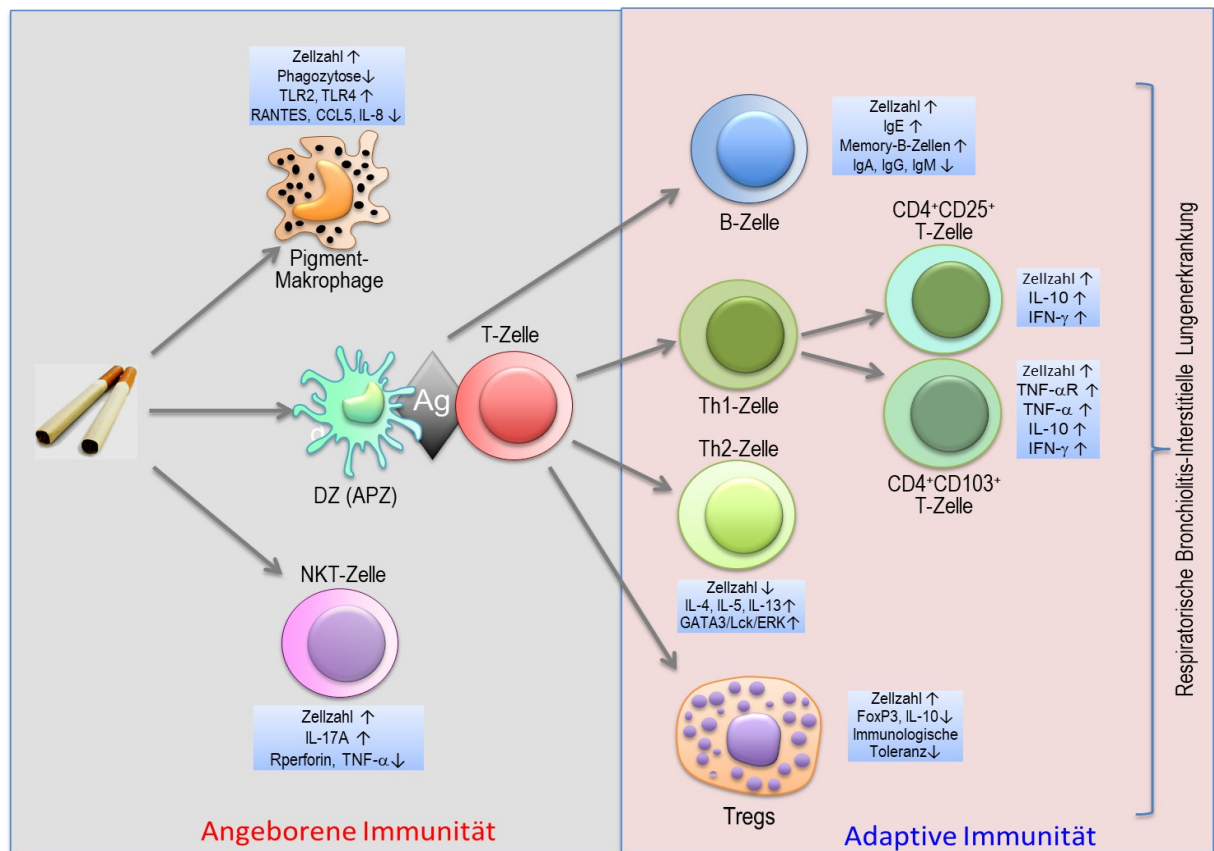


Abbildung 33: An der Pathogenese der Respiratorischen Bronchiolitis-Interstitiellen Lungenerkrankung (RB-ILD) beteiligte Entzündungszellen der angeborenen und adaptiven Immunität. (APZ=Antigen-präsentierende Zelle, DZ=dendritische Zelle, IL=Interleukin, IFN=Interferon, TNF=Tumor Necrosis Factor, Tregs=regulatorische T-Zellen, Ag=Antigen)

7.4 Beziehung zwischen RB-ILD und COPD

Die pathogenetische Bedeutung der entzündlichen Zellen einschließlich ihrer Subtypen in der Lunge wird bei der COPD bisher kaum verstanden. Eine vergleichsweise konsistente Beobachtung zum Verständnis der Pathogenese dieser Erkrankung sind die entzündlichen Veränderungen in den kleinen Atemwegen bei Patienten mit stabiler COPD bereits zu Beginn der Erkrankung (Barnes 2014). So scheint die Interaktion zwischen Makrophagen und Lymphozyten während der frühen Phase der Erkrankung in den kleinen Atemwegen die Progression der Entzündung zu bestimmen. In diesem Sinne finden sich Hinweise dafür, dass die Entwicklung der schwereren Form der COPD mit Ausbildung lymphoider Follikel, der Infiltration durch CD4⁺T-Zellen, CD8⁺T-Zellen sowie B-Zellen in den Bronchioli assoziiert ist (Di Stefano et al. 2014, Hogg 2004).

Die Veränderungen der Zelltypen und der Lymphozytensubpopulationen bei COPD werden teilweise auch bei Rauchern und bei anderen Manifestationen der COPD beobachtet. Insofern bestehen im Hinblick auf das zelluläre Muster Parallelen zwischen der RB-ILD und der

COPD zeigen ferner vermehrt aktivierte CD69-positive CD4⁺T-Zellen in der BAL verglichen mit Nichtrauchern. Des Weiteren ist die Zahl der Pigmentmakrophagen bei Rauchern dreimal so hoch wie bei Nichtrauchern (Heron et al. 2012), wobei auch hier eine Korrelation zwischen Rauchdauer/-intensität und Grad der Pigmentierung gezeigt werden konnte (Fraig et al. 2002). Unterschiede im Hinblick auf die B-Zellen, NK bzw. NKT-Zellen und CD4⁺CD103⁺T-Zellen zwischen Rauchern und gesunden Nichtrauchern wurden bisher nicht beobachtet.

Vergleicht man die bisherigen Studienergebnisse mit den oben gemachten Beobachtungen der vorgelegten Untersuchung, findet man einige Parallelen. Das bezieht sich einerseits auf die Vermehrung der CD8⁺T-Lymphozyten und andererseits auf die Aktivierung der CD4⁺T-Lymphozyten - hier gemessen anhand der Expression des Aktivierungsmarkers CD25 (IL-2-Rezeptor). Ein wichtiger Unterschied zwischen Rauchern und Rauchern mit RB-ILD typischen radiologischen Veränderungen (RB-ILD-Patienten) bezieht sich jedoch auf die deutliche Vermehrung der B-Zellen, NKT-Zellen und die Expansion der CD4⁺CD103⁺-T-Lymphozyten bei der letztgenannten Gruppe.

In dieser Hinsicht geht die vorgelegte Studie über das bisher bekannte Wissen hinaus und lenkt die Aufmerksamkeit auf bisher nicht berücksichtigte Zellen als mögliche Elemente der Pathogenese raucherassoziierter Erkrankungen.

7.6 Bedeutung des bronchoalveolären Zellmusters für die Diagnostik der RB-ILD

Die bronchoalveoläre Lavage mit Differential- und Immunzytologie bildet einen wichtigen diagnostischen Ansatz bei verschiedenen Erkrankungen der Lunge. Die Indikation zur BAL bezieht sich vorwiegend auf interstitielle Lungenerkrankungen. Hierbei soll neben der Diagnosestellung auch der Ausschluss einer Verdachtsdiagnose bzw. die Abgrenzung zu Differentialdiagnosen möglich sein. Hierzu gehören die Idiopathische pulmonale Fibrose (IPF/UIP), die Kryptogen organisierende Pneumonie (COP/BOOP), die Sarkoidose sowie die Eosinophilen-assoziierten Erkrankungen (Kroegel und Costabel 2016). Dabei ist der Einsatz der BAL neben diesen pneumologischen Erkrankungen auch bei pulmonaler Beteiligung im Rahmen von Systemerkrankungen sinnvoll. Hierzu gehören beispielsweise die Rheumatoide Arthritis oder bestimmte Kollagenosen (Jo1-Syndrom, Sklerodermie). Aber auch systemische Granulomatosen mit primär neurologischer Manifestation (z.B. Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis) bilden ebenso wie die Abgrenzung von onkologischen Erkrankungen eine Indikation zur BAL.

Während zu den genannten Erkrankungen zahlreiche Untersuchungen vorliegen, ist zu der diagnostischen Bedeutung der BAL bei Erkrankungen der kleinen Atemwege wie der RB-ILD bis dato wenig bekannt (Kroegel und Costabel 2014).

Die hier vorgestellte Untersuchung lässt ein definiertes zelluläres Muster erkennen, dass die RB-ILD von anderen Erkrankungen eindeutig unterscheidet.

Hierzu gehört einerseits die z.T. deutliche Vermehrung der B-Zellen, die man gelegentlich nur bei der Sarkoidose beobachtet - selten aber in dieser Ausprägung. Ebenfalls ungewöhnlich ist die Vermehrung der NK- und vor allem der NKT-Zellen. Diese kommt bei der Sarkoidose vor, jedoch weniger konsistent und weniger deutlich. Einen weiteren Parameter bildet die Expression des IL-2-Rezeptors (CD25) auf CD4⁺T-Lymphozyten, der nur selten bei anderen Erkrankungen beobachtet wird. Zwar findet man eine Vermehrung dieses Subtyps bei aktiver Hypersensitivitätspneumonitis, nicht jedoch in der Konstanz und der sehr hohen Expansion wie es bei der RB-ILD der Fall ist (Tabelle 19).

Umgekehrt zeichnen sich nach der hier durchgeführten Untersuchung bestimmte Erkrankungen durch andere Parameter aus.

Eine Vermehrung der CD4⁺T-Zellen sowie ein CD4/CD8-Quotient von >3 spricht beispielsweise für eine Sarkoidose und eher gegen eine RB-ILD. Der Nachweis einer CD8⁺T-Zelldominanz bei normaler Zahl an CD4⁺CD25⁺-T-Lymphozyten in Verbindung mit einer signifikanten Vermehrung der CD4⁺CD103⁺-T-Lymphozyten deutet auf das Vorliegen einer Lungenfibrose (meist im Sinne einer IPF/UIP) hin. Fehlen bei dieser Konstellation B-Zellen und CD4⁺CD103⁺-T-Lymphozyten, muss an eine Kryptogene organisierende Pneumonie (COP) gedacht werden (Tabelle 19).

Somit lässt sich anhand der Ergebnisse der vorgelegten Untersuchung ein charakteristisches Zellmuster für die RB-ILD definieren, mit dem sich das Vorliegen dieser Erkrankung mittels BAL diagnostizieren lässt. Während der Nachweis von Pigmentmakrophagen vermutlich einen Hinweis auf einen aktuellen Nikotinabusus darstellen, spricht die kombinierte Expansion von

- (1) B-Zellen,
 - (2) NK bzw. NKT-Zellen,
 - (3) CD4⁺CD25⁺-T-Lymphozyten sowie
 - (4) die Vermehrung der CD8⁺T-Lymphozyten (mit niedrigem CD4/CD8-Quotient <1,5)
- für das Vorliegen einer immunologischen Reaktion bei RB-ILD.

Tabelle 19: Muster der Zellverteilung bei RB-ILD (Respiratorische Bronchiolitis-Interstitielle Lungenerkrankung), Sarkoidose, COP (Kryptogene organisierende Pneumonie) und EAA (Exogen Allergische Alveolitis).

N=normal, ↑=leicht erhöht, ↑↑=erhöht, ↑↑↑=deutlich erhöht, ↓=erniedrigt.

Tabelle beruht auf den hier vorgestellten Ergebnissen und auf Arbeiten von Kroegel & Costabel, 2014, Heron et al., 2012.

Zellen	RB-ILD	Sarkoidose	COP	EAA
Lymphozyten	↓ - ↑	N - ↑	N	↑↑↑
Neutrophile	N	N	↑	↑
Eosinophile	N	(↑)	↑	↑
CD4 ⁺ T-Lymphozyten	↓	↑ - ↑↑↑	↑ - ↑↑	↑ - ↑↑
CD8 ⁺ T-Lymphozyten	N - ↑	↓ - ↓↓↓	↑ - ↑↑	↑ - ↑↑
CD4/CD8-Quotient	↓	↑	↓	↓
CD4 ⁺ /CD25 ⁺ T-Zellen	↑↑↑	N - ↑	N	↑ - ↑↑
B-Zellen	↑↑	N - ↑	N - ↓	↑
NK-Zellen	↑ - ↑↑	N - (↑)	N - ↑	↑
NKT-Zellen	↑ - ↑↑↑	N - (↑)	N - ↑	↑

7.7 Histologisch-gesicherte versus nicht histologisch-gesicherte RB-ILD

Beim Vergleich der histologisch-gesicherten mit den nicht histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten ergaben sich einige Unterschiede, die hier angesprochen werden sollen.

Diese beziehen sich zunächst auf die Vermehrung der Pigmentmakrophagen, die im Mittel in der nicht histologisch-gesicherten RB-ILD-Gruppe ausgeprägter ist als bei der histologisch-gesicherten Gruppe (24% versus 10%), obwohl bei den histologisch-gesicherten Patienten ein stärkerer Zigarettenkonsum bestand (27,5 PY versus 30 PY). Der CD8⁺T-Zellanteil in der BAL war bei den histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten höher als bei den Patienten mit nicht histologisch-gesicherter Erkrankung. Der Anteil der CD4⁺T-Zellen war bei den histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten in der BAL signifikant niedriger als bei den nicht histologisch-Gesicherten. Folglich war der CD4/CD8-Quotient bei histologisch-gesicherter RB-ILD signifikant niedriger als bei nicht histologisch-Gesicherter (0,8 versus 1,9). Der relative Anteil der NK-, NKT-Zellen und CD4⁺CD25⁺T-Lymphozyten in der BAL war bei den histologisch-gesicherten Patienten höher, wohingegen der Anteil der B-Zellen und der CD4⁺CD103⁺T-Lymphozyten bei den nicht histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten höher war. Diese Unterschiede waren allerdings nicht signifikant.

Neben den zellulären Veränderungen war die Diffusionskapazität der histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten weniger eingeschränkt als die der nicht histologisch-gesicherten Patienten (85% versus 68%).

Radiologisch trat ein Emphysem in der nicht-gesicherten RB-ILD-Gruppe häufiger auf als in der histologisch-gesicherten Gruppe (21% versus 14%). Während das Mosaikmuster bei den histologisch-gesicherten Patienten die häufigste Veränderung im HRCT darstellte (86%), dominierten bei den nicht histologisch-gesicherten Patienten die zentrilobulären Noduli (71%). Schließlich zeigten sich die radiologischen Veränderungen in der histologisch-gesicherten Gruppe zwar insgesamt seltener, aber deutlicher ausgeprägt als in der nicht histologisch-gesicherten Gruppe.

Die Ursache für die Unterscheide innerhalb der RB-ILD-Patienten ist nicht unmittelbar ersichtlich. Allerdings könnte die Intensität bzw. die Menge gerauchter Zigaretten, das Alter, das Geschlecht oder Komorbidität hierbei eine Rolle spielen (Valeyre et al. 1988). Die histologisch-gesicherten Patienten mit RB-ILD waren im Schnitt um 5,5 Jahre älter und rauchten 2,5 Pack Years mehr als die nicht histologisch-gesicherten Patienten. Ferner waren die histologisch-gesicherten Patienten alle männlich, während 29% der nicht histologisch-gesicherten Patienten weiblich waren. Darüber hinaus dürfte auch ein Selektionsbias ebenso wie die geringe Patientenzahl für die beobachteten Unterschiede mitverantwortlich sein (siehe Limitationen).

7.8 Veränderungen in der Lungenfunktion bei RB-ILD

Ganzkörperplethysmographie: Die Lungenfunktion bei Patienten mit RB-ILD ergab eine überwiegend obstruktive Ventilationsstörung (47,6%) mit Erhöhung des Residualvolumens und erniedrigtem FEV1 bzw. Tiffeneau-Index, was sich durch die im Rahmen des Zigarettenabusus verursachte Obstruktion (COPD) erklären lässt. Restriktive Veränderungen, wie sie bei der RB-ILD vorkommen können (Myers et al. 1987, Moon et al. 1999), zeigten sich in <20%. Bei den hier untersuchten Sarkoidose-Patienten hingegen bestand keine signifikante lungenfunktionelle Einschränkung.

Diffusion: Bei den Patienten mit RB-ILD fand sich eine Reduktion des Transferfaktors DLCO und des Transferkoeffizienten DLCO/VA (70% vom Sollwert), die bei den histologisch-gesicherten RB-ILD-Patienten weniger deutlich ausfiel als bei nicht histologisch-gesicherter Erkrankung. Diese funktionelle Einschränkung dürfte auf die entzündlichen Veränderungen und die Mukushypersekretion mit Verlegung bzw. Verengung der Bronchioli zurückgehen - selbst wenn kein Emphysem vorliegt. Die hier präsentierten Ergebnisse der Studie zeigten keine Korrelation zwischen der Diffusionskapazität und dem Schweregrad der Erkrankung, was mit

anderen Studien übereinstimmt (Portnoy et al. 2007). Eine signifikante Einschränkung der DLCO bei Sarkoidose ist nur ab dem Stadium II nach Scadding (1967) mit interstitieller Beteiligung in Form eines retikulonodulären Musters bis hin zur generalisierten Lungenfibrose (Stadium V) zu erwarten (Aleksioniene et al. 2017), was bei den hier untersuchten Patienten nicht der Fall war.

7.9 Charakterisierung der radiologischen Veränderungen bei RB-ILD

Die radiologischen Veränderungen bei RB-ILD umfassen in erster Linie zentrilobuläre Noduli, ein Tree-in-bud-Zeichen und ein Mosaikmuster. Sie sind Ausdruck einer lokalen Hypersekretion mit Stenose der kleinen Atemwege und der daraus resultierenden Obstruktion (Kroegel und Costabel 2016, Kroegel et al. 2012a) (siehe Methoden).

Bei 71% der RB-ILD-Patienten fanden sich mindestens zwei für eine Bronchiolitis typische CT-Veränderungen (Abbildung 1). Das gemeinsame Auftreten von Mosaikmuster und zentrilobulären Noduli im HRCT war hierbei die häufigste Kombination (33%). Es ließ sich bei der histologisch-gesicherten RB-ILD bei 2 von 7 Patienten (29%) beobachten und bei der nicht-gesicherten RB-ILD bei 5 von 14 Patienten (36%). Im Gegensatz zu den zentrilobulären Noduli ließ sich das Tree-in-bud-Zeichen in der hier vorliegenden Untersuchung nur bei einem RB-ILD-Patienten nachweisen.

Die Ursache für das heterogene radiologische Muster ist nicht unmittelbar ersichtlich. Es besteht jedoch ein Zusammenhang zwischen den radiologischen Läsionen und dem aktuellen Raucherstatus. Demnach ist nach Nikotinabstinenz die Wahrscheinlichkeit einer im HRCT sichtbaren Progression reduziert (Sverzellati et al. 2011). In vorrausgegangenen Studien zeigten sich zudem Hinweise auf eine Korrelation zwischen dem Auftreten von zentrilobulären Noduli und der Anzahl der Pigmentmakrophagen (Nakanishi et al. 2007, Remy-Jardin et al. 1993b, Park et al. 2002).

Die radiologischen und histologischen Veränderungen können allerdings im Gegensatz zu den Pigmentmakrophagen selbst Jahre nach Beendigung des Rauchens noch persistieren (Nakanishi et al. 2007, Portnoy et al. 2007, Fraig et al. 2002). Dies zeigte sich auch in der hier präsentierten Studie, in der bei zwei RB-ILD-Patienten trotz Nikotinabstinenz von ein bzw. vier Monaten vor der BAL zum Zeitpunkt der Untersuchung RB-ILD-typische Veränderungen im HRCT vorhanden waren. Allerdings erstreckte sich die Rauchabstinenz auf nur wenige Monate, so dass der Zeitraum für eine Rückbildung der CT-Veränderungen möglicherweise zu kurz war.

Die pathogenetische oder prognostische Bedeutung der zentrilobulären Noduli für den Verlauf der RB-ILD ist nicht bekannt. Es wurde vermutet, dass die zentrilobulären Veränderungen der Lunge möglicherweise Vorläufer von lungenemphysematösen Läsionen darstellen könnten (Remy-Jardin et al. 2002). Die hier erhobenen Daten lassen jedoch keinen weitergehenden Schluss zu, ob die RB-ILD als Vorstufe des Emphysems angesehen werden kann. Nur 19% der Patienten mit RB-ILD zeigten im HRCT Hinweise auf ein Emphysem, was in etwa der zu erwartenden Häufigkeit des Emphysems in der Allgemeinbevölkerung entspricht. Allerdings ist zu beachten, dass sich ein beginnendes Emphysem häufig noch nicht radiologisch nachweisen lässt (Margaritopoulos et al. 2016, Park et al. 2002, Moon et al. 1999).

Während zentrilobuläre Noduli eines der Hauptbefunde im HRCT bei der RB-ILD darstellen (Myers et al. 1987, Yousem et al. 1989, Moon et al. 1999), kann ein noduläres Muster auch bei Sarkoidose vorkommen. Die hier untersuchten Patienten mit Sarkoidose wiesen in 40% ein noduläres Muster auf. Im Unterschied zur RB-ILD handelt es sich jedoch nicht um zentrilobuläre Läsionen in den kleinen Atemwegen, sondern um mikronoduläre granulomatöse Läsionen, die vorwiegend peribronchial lokalisiert und diffuser über alle Lungenabschnitte verteilt sind (Muller et al. 1989, Park et al. 2009, Dhagat et al. 2017).

Eine Lymphadenopathie ist bei der Mehrheit der Sarkoidose-Patienten im HRCT zu erkennen, was mit den Beobachtungen anderer Studien übereinstimmt (Lynch et al. 1997, Dhagat et al. 2017). Die Vergrößerung der Lymphknoten bei der Sarkoidose mit Lungenbeteiligung ist meist bihilär ausgeprägt und zeigt die erhöhte Aktivität des Immunsystems an. Bei der RB-ILD hingegen trat in dieser Untersuchung eine bihiläre Lymphadenopathie nur bei 29% der Patienten auf.

Auch Milchglastrübungen konnten bei RB-ILD-Patienten im HRCT in verschiedenen Studien nachgewiesen werden (Remy-Jardin et al. 1993b, Yousem et al. 1989, Moon et al. 1999). Laut Nakanishi et. al korreliert dabei die Ausprägung der Milchglastrübungen mit der Anzahl der Alveolarmakrophagen (Nakanishi et al. 2007). In der vorgelegten Untersuchung konnte lediglich bei einem RB-ILD-Patienten mit einer hohen Anzahl an Pigmentmakrophagen eine Milchglastrübung nachgewiesen werden. Bei den Sarkoidose-Patienten zeigten sich Milchglastrübungen oder alveoläre Konsolidierungen bei einem bzw. vier Patienten. Zwei weitere Patienten mit Sarkoidose wiesen retikuläre Veränderungen als Zeichen eines beginnenden fibrotischen Umbaus auf. Vergleichbare Muster ließen sich bei der RB-ILD in dieser Untersuchung sowie bereits in früheren Studien nicht nachweisen (Craig et al. 2004).

Während der Datenerhebung für die aktuelle Studie konnten bei zwei Patienten - trotz des Vorliegens eines Rauchabusus und erhöhter NKT-Zellen sowie Pigmentmakrophagen in der

BAL - keine für eine Bronchiolitis typischen HRCT-Veränderungen beobachtet werden. Bei einem dieser Patienten zeigte sich ein unauffälliger HRCT-Befund, bei dem anderen eine kleine Emphyseblase sowie Wandverdickungen wahrscheinlich entzündlicher Genese.

7.10 Limitationen

Bei der Untersuchung bestehen einige Limitationen, die bei der Interpretation berücksichtigt werden müssen.

Es lässt sich nicht eindeutig darlegen, ob allein der Nikotinabusus für die Veränderungen verantwortlich ist. Allerdings war die Studie a priori nicht darauf ausgelegt die reinen mit dem Rauchen zusammenhängenden zellulären Veränderungen zu erfassen - zumal dies bereits untersucht wurde (Costabel und Guzman 1992).

Nach den Einschlusskriterien beruht die Arbeit auf Patienten mit Zeichen einer Bronchiolitis und einem Nikotinabusus von mehr als 10 PY. Dieser Zugang hat Schwächen, da aufgrund der Nachweisgrenze Patienten mit sehr geringen Veränderungen nicht erfasst werden. Daher ist hier nur für Patienten eine Aussage zu treffen, bei denen radiologische Veränderungen nachzuweisen waren. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass sich leichtere Erkrankungen auf einer Ebene manifestieren, die sich selbst durch modernste radiologische Verfahren nicht darstellen lässt. Krankheitsprozesse bilden ein pathogenetisches Kontinuum, das sich noch vor der klinischen Manifestation entwickelt und sich in frühen Phasen diagnostischen Methoden entzieht.

Eine weitere Einschränkung ist die Angabe der Zigarettenbelastung, die allein auf anamnestischen Informationen der Patienten beruhte und somit nur eine Annäherung darstellen kann. Darüber hinaus wurde die aktuelle Medikation nur auf die inhalative Therapie (z.B. inhalative Glukokortikosteroide) begrenzt. Andere orale Medikamente wurden nicht berücksichtigt, so dass ein möglicher Effekt auf die Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden kann. Schließlich könnte auch der Unterschied des mittleren Alters zwischen RB-ILD-Patienten und den Kontrollen sowie die geringe Fallzahl – insbesondere in der Gruppe der Patienten mit histologisch gesicherter RB-ILD - die Aussagekraft der Ergebnisse beeinflusst haben.

Zudem flossen bei der gesunden Kontrollgruppe nur die Ergebnisse der BAL in die Studie mit ein, da im Jahr 2003 lediglich diese Daten erhoben wurden. Eine erneute Konsultierung der Probanden war aufgrund der Zeitspanne zwischen BAL und Aufbereitung der Daten für diese Arbeit nicht möglich. Vergleiche der untersuchten Lungenerkrankungen mit gesunden Kontrollen waren daher nur im Bezug auf die BAL-Ergebnisse möglich.

8 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Arbeit bietet einen ersten Einblick in die bei RB-ILD zugrunde liegenden zellulären Veränderungen im Bronchoalveolarraum. Die Ergebnisse legen nahe, dass die RB-ILD im Hinblick auf das zelluläre Muster eine Manifestationsform der COPD darstellt und sich durch einzelne Parameter von anderen Manifestationen der COPD unterscheidet. Die Auswirkungen der RB-ILD auf den Verlauf der COPD bleiben jedoch unklar. So lässt sich nicht darstellen, ob die RB-ILD eine Vorstufe der schweren COPD mit Emphysem ist.

Im Einzelnen zeigen die Ergebnisse der Untersuchungen, dass es im Rahmen der RB-ILD neben einer unspezifischen Immunreaktion (v.a. Expansion der NKT-Zellen) auch zu einer Aktivierung des adaptiven Immunsystems kommt, worauf neben den B-Zellen vor allem die $CD4^+CD25^+$ T-Zellen hinweisen. In diesem Zusammenhang ist es nach den erhobenen Ergebnissen der Untersuchung denkbar, dass bei der Pathogenese der RB-ILD autoimmunologische Aspekte eine Rolle spielen.

Zukünftige Untersuchungen müssen alle Patienten mit einem Nikotinabusus berücksichtigen und genauere Angaben zum Nikotinabusus erhalten bzw. diesen besser quantifizieren. Dies könnte durch die Berücksichtigung der Angaben des Ehepartners oder der Auswertung älterer medizinischer Dokumente erfolgen. Gleiches gilt für den Nachweis des aktuellen Raucherstatus. Hierzu sollten zukünftig biochemische Parameter herangezogen werden (z.B. Cotinin). Ferner sollte die komplette zum Zeitpunkt der Untersuchung bestehende Medikation in der Untersuchung miterfasst werden.

Ferner sollten zukünftige Studien weitere Zellsubtypen analysieren. Hierbei ist an die gamma/delta-Zellen zu denken, die offenbar eine Rolle bei der COPD spielen (Urboniene et al. 2013). Des Weiteren wäre in diesem Zusammenhang eine Untersuchung der dendritischen Zellen bei Rauchern und das Vorkommen von T_{regs} durch die Analyse der FoxP3-Expression (z.B. in $CD25^+CD4^+$ T-Lymphozyten) sinnvoll. Zudem sollten die Zellen ex vivo nach ihren funktionellen Eigenschaften (z.B. Zytokinexpression) untersucht werden, um ihre pathogenetische Bedeutung besser zu verstehen. In diesem Sinne wäre es wünschenswert, die Untersuchungen der BAL-Zellen mit der Expression im Gewebe zu vergleichen.

Darüber hinaus sollten Patienten mit und ohne radiologische Veränderungen miteinander verglichen werden. Diese sollten nach Alter, Geschlecht und dem Zigarettenkonsum miteinander vergleichbar sein. Dabei sollten ferner Patienten berücksichtigt werden, bei denen ein Emphysem ausgeschlossen wurde.

Ein anderer ebenso wichtiger Ansatz ist die Verlaufsbeobachtung der Patienten mit RB-ILD, um zu ermitteln, welche Faktoren bei der Entwicklung zur DIP eine Rolle spielen und ob sich die DIP tatsächlich aus der RB-ILD entwickelt.

9 Literatur

Aleksoniene R, Zeleckiene I, Mataciunas M, Purnaite R, Jurgauskiene L, Malickaite R, Strumiliene E, Gruslys V, Zablockis R, Danila E. 2017. Relationship between radiologic patterns, pulmonary function values and bronchoalveolar lavage fluid cells in newly diagnosed sarcoidosis. *J Thorac Dis*, 9 (1):88-95.

Aubry MC, Wright JL, Myers JL. 2000. The pathology of smoking-related lung diseases. *Clin Chest Med*, 21 (1):11-35, vii.

Aziz ZA, Wells AU, Hansell DM, Bain GA, Copley SJ, Desai SR, Ellis SM, Gleeson FV, Grubnic S, Nicholson AG, Padley SP, Pointon KS, Reynolds JH, Robertson RJ, Rubens MB. 2004. HRCT diagnosis of diffuse parenchymal lung disease: inter-observer variation. *Thorax*, 59 (6):506-511.

Barcelo B, Pons J, Ferrer JM, Sauleda J, Fuster A, Agusti AG. 2008. Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: abnormal CD4⁺CD25⁺ regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking. *Eur Respir J*, 31 (3):555-562.

Barnes PJ. 2014. Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Chest Med*, 35 (1):71-86.

Barnes PJ, Adcock IM, Ito K. 2005. Histone acetylation and deacetylation: importance in inflammatory lung diseases. *Eur Respir J*, 25 (3):552-563.

Beasley MB. 2010. Smoking-related Small airway disease--a review and update. *Adv Anat Pathol*, 17 (4):270-276.

Bozinovski S, Seow HJ, Chan SP, Anthony D, McQualter J, Hansen M, Jenkins BJ, Anderson GP, Vlahos R. 2015. Innate cellular sources of interleukin-17A regulate macrophage accumulation in cigarette- smoke-induced lung inflammation in mice. *Clin Sci (Lond)*, 129 (9):785-796.

Braun RK, Foerster M, Grahmann PR, Haefner D, Workalemahu G, Kroegel C. 2003. Phenotypic and molecular characterization of CD103⁺ CD4⁺ T cells in bronchoalveolar lavage from patients with interstitial lung diseases. *Cytometry B Clin Cytom*, 54 (1):19-27.

Brusselle G, Bracke K. 2014. Targeting immune pathways for therapy in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Am Thorac Soc*, 11 Suppl 5:S322-328.

Burgel PR, Bergeron A, de Blic J, Bonniaud P, Bourdin A, Chanez P, Chinet T, Dalphin JC, Devillier P, Deschildre A, Didier A, Kambouchner M, Knoop C, Laurent F, Nunes H, Perez T, Roche N, Tillie-Leblond I, Dusser D. 2013. Small airways diseases, excluding asthma and COPD: an overview. *Eur Respir Rev*, 22 (128):131-147.

Caminati A, Cavazza A, Sverzellati N, Harari S. 2012. An integrated approach in the diagnosis of smoking-related interstitial lung diseases. *Eur Respir Rev*, 21 (125):207-217.

Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, Hafler D, Klareskog L, Trollmo C. 2003. Isolation and functional characterization of regulatory CD25^{bright}CD4⁺ T cells from the target organ of patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*, 33 (1):215-223.

Caramori G, Casolari P, Giuffre S, Barczyk A, Adcock I, Papi A. 2011. COPD pathology in the small airways. *Panminerva Med*, 53 (1):51-70.

Chaowalit N, Pellikka PA, Decker PA, Aubry MC, Krowka MJ, Ryu JH, Vassallo R. 2004. Echocardiographic and clinical characteristics of pulmonary hypertension complicating pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *Mayo Clin Proc*, 79 (10):1269-1275.

Chen K, Pociask DA, McAleer JP, Chan YR, Alcorn JF, Kreindler JL, Keyser MR, Shapiro SD, Houghton AM, Kolls JK, Zheng M. 2011. IL-17RA is required for CCL2

expression, macrophage recruitment, and emphysema in response to cigarette smoke. . PLoS One. 6 (5). e20333.

Choux R, Pautrat G, Viallat J, Farisse P, Boutin C. 1978. Inorganic cytoplasmic inclusions in alveolar macrophages. The role of cigarette smoking. Arch Pathol Lab Med, 102 (2):79-83.

Cosio M, Ghezzi H, Hogg JC, Corbin R, Loveland M, Dosman J, Macklem PT. 1978. The relations between structural changes in small airways and pulmonary-function tests. N Engl J Med, 298 (23):1277-1281.

Costabel U, Guzman J. 1992. Effect of smoking on bronchoalveolar lavage constituents. Eur Respir J, 5 (7):776-779.

Craig PJ, Wells AU, Doffman S, Rassi D, Colby TV, Hansell DM, Du Bois RM, Nicholson AG. 2004. Desquamative interstitial pneumonia, respiratory bronchiolitis and their relationship to smoking. Histopathology, 45 (3):275-282.

Devakonda A, Raoof S, Sung A, Travis WD, Naidich D. 2010. Bronchiolar disorders: a clinical-radiological diagnostic algorithm. Chest, 137 (4):938-951.

Dhagat PK, Singh S, Jain M, Singh SN, Sharma RK. 2017. Thoracic Sarcoidosis: Imaging with High Resolution Computed Tomography. J Clin Diagn Res, 11 (2):TC15-TC18.

Di Stefano A, Caramori G, Oates T, Capelli A, Lusuardi M, Gnemmi I, Ioli F, Chung KF, Donner CF, Barnes PJ, Adcock IM. 2002. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. Eur Respir J, 20 (3):556-563.

Di Stefano A, Capelli A, Lusuardi M, Caramori G, Balbo P, Ioli F, Sacco S, Gnemmi I, Brun P, Adcock IM, Balbi B, Barnes PJ, Chung KF, Donner CF. 2001. Decreased T lymphocyte infiltration in bronchial biopsies of subjects with severe chronic obstructive pulmonary disease. Clin Exp Allergy, 31 (6):893-902.

Di Stefano A, Caramori G, Barczyk A, Vicari C, Brun P, Zanini A, Cappello F, Garofano E, Padovani A, Contoli M, Casolari P, Durham AL, Chung KF, Barnes PJ, Papi A, Adcock I, Balbi B. 2014. Innate immunity but not NLRP3 inflammasome activation correlates with severity of stable COPD. *Thorax*, 69 (6):516-524.

Evans RA, Morgan MD. 2014. The systemic nature of chronic lung disease. *Clin Chest Med*, 35 (2):283-293.

Faner R, Cruz T, Casserras T, Lopez-Giraldo A, Noell G, Coca I, Tal-Singer R, Miller B, Rodriguez-Roisin R, Spira A, Kalko SG, Agusti A. 2016. Network Analysis of Lung Transcriptomics Reveals a Distinct B-Cell Signature in Emphysema. *Am J Respir Crit Care Med*, 193 (11):1242-1253.

Ferchland, RK B, C S, Foerster M, Kroegel C. 2001. The expansion of CD103+CD4+-T-lymphocytes in the broncho-alveolar compartment. Comparison between COPD with and without emphysema and bronchial asthma. . *Am J Respir Crit Care Med* 163.

Fischer A, Solomon JJ, du Bois RM, Deane KD, Olson AL, Fernandez-Perez ER, Huie TJ, Stevens AD, Gill MB, Rabinovitch AM, Lynch DA, Burns DA, Pineiro IS, Groshong SD, Duarte Achcar RD, Brown KK, Martin RJ, Swigris JJ. 2012. Lung disease with anti-CCP antibodies but not rheumatoid arthritis or connective tissue disease. *Respir Med*, 106 (7):1040-1047.

Fletcher C, Peto R. 1977. The natural history of chronic airflow obstruction. *Br Med J*, 1 (6077):1645-1648.

Forsslund H, Mikko M, Karimi R, Grunewald J, Wheelock AM, Wahlstrom J, Skold CM. 2014. Distribution of T-cell subsets in BAL fluid of patients with mild to moderate COPD depends on current smoking status and not airway obstruction. *Chest*, 145 (4):711-722.

-
- Fraig M, Shreesha U, Savici D, Katzenstein AL. 2002. Respiratory bronchiolitis: a clinicopathologic study in current smokers, ex-smokers, and never-smokers. *Am J Surg Pathol*, 26 (5):647-653.
- Glader PS, Lofdahl CG, von Wachenfeldt KA. 2005. alphaEbeta7 expression on CD8+ T-cells in COPD BAL fluid and on TGF-beta stimulated T-cells in vitro. *Lung*, 183 (2):123-138.
- Harms D, Muller KM. 2001. [Histopathological aspects of Langerhans cell histiocytosis. With emphasis on the pulmonary form]. *Pathologe*, 22 (3):175-183.
- Herold G. 2014. *Innere Medizin*. Köln.
- Heron M, Grutters JC, ten Dam-Molenkamp KM, Hijdra D, van Heugten-Roeling A, Claessen AM, Ruven HJ, van den Bosch JM, van Velzen-Blad H. 2012. Bronchoalveolar lavage cell pattern from healthy human lung. *Clin Exp Immunol*, 167 (3):523-531.
- Heyneman LE, Ward S, Lynch DA, Remy-Jardin M, Johkoh T, Muller NL. 1999. Respiratory bronchiolitis, respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease, and desquamative interstitial pneumonia: different entities or part of the spectrum of the same disease process? *AJR Am J Roentgenol*, 173 (6):1617-1622.
- Hodge G, Mukaro V, Holmes M, Reynolds PN, Hodge S. 2013. Enhanced cytotoxic function of natural killer and natural killer T-like cells associated with decreased CD94 (Kp43) in the chronic obstructive pulmonary disease airway. *Respirology*, 18 (2):369-376.
- Hogg JC. 2004. Pathophysiology of airflow limitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*, 364 (9435):709-721.
- Hogg JC, Timens W. 2009. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Annu Rev Pathol*, 4:435-459.

Jensen K, Nizamutdinov D, Guerrier M, Afroze S, Dostal D, Glaser S. 2012. General mechanisms of nicotine-induced fibrogenesis. *FASEB J*, 26 (12):4778-4787.

Katzenstein AL. 2012. Smoking-related interstitial fibrosis (SRIF), pathogenesis and treatment of usual interstitial pneumonia (UIP), and transbronchial biopsy in UIP. *Mod Pathol*, 25 Suppl 1:S68-78.

King TE, Jr. 1993. Respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease. *Clin Chest Med*, 14 (4):693-698.

Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Kallberg H, Bengtsson C, Grunewald J, Ronnelid J, Harris HE, Ulfgren AK, Rantapaa-Dahlqvist S, Eklund A, Padyukov L, Alfredsson L. 2006. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum*, 54 (1):38-46.

Koetz K, Bryl E, Spickschen K, O'Fallon WM, Goronzy JJ, Weyand CM. 2000. T cell homeostasis in patients with rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97 (16):9203-9208.

Kroegel C, Costabel U. 2014. *Klinische Pneumologie. Das Referenzwerk für Klinik und Praxis* Stuttgart Thieme Verlag

Kroegel C, Costabel U. 2016. Bronchiolitis. Grundlagen, Diagnostik und Therapie In: *Handbuch seltener Erkrankungen*. Heidelberg Springer Verlag:413-425.

Kroegel C, Haidl P, Kohlhauf M, Voshaar T. 2012a. [Bronchiolitis]. *Pneumologie*, 66 (2):78-88.

Kroegel C, Haidl P, Kohlhauf M, Voshaar T. 2012b. [Bronchiolitis. Part 1--anatomic features, classification, clinical presentation and imaging]. *Pneumologie*, 66 (1):28-38.

Laan M, Cui ZH, Hoshino H, Lotvall J, Sjostrand M, Gruenert DC, Skoogh BE, Linden A. 1999. Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways. *J Immunol*, 162 (4):2347-2352.

Lee SH, Goswami S, Grudo A, Song LZ, Bandi V, Goodnight-White S, Green L, Hacken-Bitar J, Huh J, Bakaeen F, Coxson HO, Cogswell S, Storness-Bliss C, Corry DB, Kheradmand F. 2007. Anti-elastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema. *Nat Med*, 13 (5):567-569.

Lombard CM, Medeiros LJ, Colby TV. 1987. Pulmonary histiocytosis X and carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 111 (4):339-341.

Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. 2013. The hallmarks of aging. *Cell*, 153 (6):1194-1217.

Lynch JP, 3rd, Kazerooni EA, Gay SE. 1997. Pulmonary sarcoidosis. *Clin Chest Med*, 18 (4):755-785.

MacNee W. 2013. Systemic inflammatory biomarkers and co-morbidities of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Med*, 45 (3):291-300.

Margaritopoulos GA, Harari S, Caminati A, Antoniou KM. 2016. Smoking-related idiopathic interstitial pneumonia: A review. *Respirology*, 21 (1):57-64.

Margaritopoulos GA, Tsitoura E, Tzanakis N, Spandidos DA, Siafakas NM, Sourvinos G, Antoniou KM. 2013. Self-eating: friend or foe? The emerging role of autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis. *Biomed Res Int*, 2013:420497.

Marten K. 2007. [Smoking-related interstitial lung diseases]. *Rofo*, 179 (3):268-275.

Mikko M, Forsslund H, Cui L, Grunewald J, Wheelock AM, Wahlstrom J, Skold CM. 2013. Increased intraepithelial (CD103+) CD8+ T cells in the airways of smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease. *Immunobiology*, 218 (2):225-231.

Moon J, du Bois RM, Colby TV, Hansell DM, Nicholson AG. 1999. Clinical significance of respiratory bronchiolitis on open lung biopsy and its relationship to smoking related interstitial lung disease. *Thorax*, 54 (11):1009-1014.

Morgan ME, Suttmuller RP, Witteveen HJ, van Duivenvoorde LM, Zanelli E, Melief CJ, Snijders A, Offringa R, de Vries RR, Toes RE. 2003. CD25+ cell depletion hastens the onset of severe disease in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*, 48 (5):1452-1460.

Muller NL, Kullnig P, Miller RR. 1989. The CT findings of pulmonary sarcoidosis: analysis of 25 patients. *AJR Am J Roentgenol*, 152 (6):1179-1182.

Myers JL, Veal CF, Jr., Shin MS, Katzenstein AL. 1987. Respiratory bronchiolitis causing interstitial lung disease. A clinicopathologic study of six cases. *Am Rev Respir Dis*, 135 (4):880-884.

Nakanishi M, Demura Y, Mizuno S, Ameshima S, Chiba Y, Miyamori I, Itoh H, Kitaichi M, Ishizaki T. 2007. Changes in HRCT findings in patients with respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease after smoking cessation. *Eur Respir J*, 29 (3):453-461.

Niewoehner DE, Kleinerman J, Rice DB. 1974. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med*, 291 (15):755-758.

Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. 2008. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity*, 28 (4):454-467.

Papakosta D, Manika K, Gounari E, Kyriazis G, Kontakiotis T, Spyropoulos G, Kontakioti E, Zarogoulidis K. 2014. Bronchoalveolar lavage fluid and blood natural killer and natural killer T-like cells in cryptogenic organizing pneumonia. *Respirology*, 19 (5):748-754.

Papiris SA, Malagari K, Manali ED, Kolilekas L, Triantafillidou C, Baou K, Rontogianni D, Bouros D, Kagouridis K. 2013. Bronchiolitis: adopting a unifying

definition and a comprehensive etiological classification. *Expert Rev Respir Med*, 7 (3):289-306.

Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. 2005. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*, 6 (11):1133-1141.

Park HJ, Jung JI, Chung MH, Song SW, Kim HL, Baik JH, Han DH, Kim KJ, Lee KY. 2009. Typical and atypical manifestations of intrathoracic sarcoidosis. *Korean J Radiol*, 10 (6):623-631.

Park JS, Brown KK, Tudor RM, Hale VA, King Jr TE, Lynch DA. 2002. Respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease: radiologic features with clinical and pathologic correlation. *J Comput Assist Tomogr*, 26 (1):13-20.

Peros-Golubicic T, Ljubic S. 1995. Cigarette smoking and sarcoidosis. *Acta Med Croatica*, 49 (4-5):187-193.

Pichavant M, Remy G, Bekaert S, Le Rouzic O, Kervoaze G, Vilain E, Just N, Tillie-Leblond I, Trottein F, Cataldo D, Gosset P. 2014. Oxidative stress-mediated iNKT-cell activation is involved in COPD pathogenesis. *Mucosal Immunol*, 7 (3):568-578.

Polverino F, Cosio BG, Pons J, Laucho-Contreras M, Tejera P, Iglesias A, Rios A, Jahn A, Sauleda J, Divo M, Pinto-Plata V, Sholl L, Rosas IO, Agusti A, Celli BR, Owen CA. 2015. B Cell-Activating Factor. An Orchestrator of Lymphoid Follicles in Severe Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 192 (6):695-705.

Portnoy J, Veraldi KL, Schwarz MI, Cool CD, Curran-Everett D, Cherniack RM, King TE, Jr., Brown KK. 2007. Respiratory bronchiolitis-interstitial lung disease: long-term outcome. *Chest*, 131 (3):664-671.

Postman, HK R, NH tH, M. vdB. 2014. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease: similarities and differences *Clin Chest Med*, 35:143-156

Prasse A, Stahl M, Schulz G, Kayser G, Wang L, Ask K, Yalcintepe J, Kirschbaum A, Bargagli E, Zissel G, Kolb M, Muller-Quernheim J, Weiss JM, Renkl AC. 2009. Essential role of osteopontin in smoking-related interstitial lung diseases. *Am J Pathol*, 174 (5):1683-1691.

Remy-Jardin M, Remy J, Gosselin B, Becette V, Edme JL. 1993a. Lung parenchymal changes secondary to cigarette smoking: pathologic-CT correlations. *Radiology*, 186 (3):643-651.

Remy-Jardin M, Remy J, Boulenguez C, Sobaszek A, Edme JL, Furon D. 1993b. Morphologic effects of cigarette smoking on airways and pulmonary parenchyma in healthy adult volunteers: CT evaluation and correlation with pulmonary function tests. *Radiology*, 186 (1):107-115.

Remy-Jardin M, Edme JL, Boulenguez C, Remy J, Mastora I, Sobaszek A. 2002. Longitudinal follow-up study of smoker's lung with thin-section CT in correlation with pulmonary function tests. *Radiology*, 222 (1):261-270.

Retamales I, Elliott WM, Meshi B, Coxson HO, Pare PD, Sciurba FC, Rogers RM, Hayashi S, Hogg JC. 2001. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection. *Am J Respir Crit Care Med*, 164 (3):469-473.

Rihs S, Walker C, Virchow JC, Jr., Boer C, Kroegel C, Giri SN, Braun RK. 1996. Differential expression of alpha E beta 7 integrins on bronchoalveolar lavage T lymphocyte subsets: regulation by alpha 4 beta 1-integrin crosslinking and TGF-beta. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 15 (5):600-610.

Ryu JH, Myers JL, Capizzi SA, Douglas WW, Vassallo R, Decker PA. 2005. Desquamative interstitial pneumonia and respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease. *Chest*, 127 (1):178-184.

Saetta M, Turato G, Maestrelli P, Mapp CE, Fabbri LM. 2001. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 163 (6):1304-1309.

Sakaguchi S. 2011. Regulatory T cells: history and perspective. *Methods Mol Biol*, 707:3-17.

Schonfeld N. 2003. [Pulmonary Langerhans cell histiocytosis]. *Pneumologie*, 57 (3):159-165.

Sergejeva S, Ivanov S, Lotvall J, Linden A. 2005. Interleukin-17 as a recruitment and survival factor for airway macrophages in allergic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 33 (3):248-253.

Seys LJ, Verhamme FM, Schinwald A, Hammad H, Cunoosamy DM, Bantsimba-Malanda C, Sabirsh A, McCall E, Flavell L, Herbst R, Provoost S, Lambrecht BN, Joos GF, Brusselle GG, Bracke KR. 2015. Role of B Cell-Activating Factor in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 192 (6):706-718.

Sieminska A, Kuziemski K. 2014. Respiratory bronchiolitis-interstitial lung disease. *Orphanet J Rare Dis*, 9:106.

Siena L, Gjemarkaj M, Elliot J, Pace E, Bruno A, Baraldo S, Saetta M, Bonsignore MR, James A. 2011. Reduced apoptosis of CD8⁺ T-lymphocytes in the airways of smokers with mild/moderate COPD. *Respir Med*, 105 (10):1491-1500.

Sverzellati N, Guerci L, Randi G, Calabro E, La Vecchia C, Marchiano A, Pesci A, Zompatori M, Pastorino U. 2011. Interstitial lung diseases in a lung cancer screening trial. *Eur Respir J*, 38 (2):392-400.

Taraseviciene-Stewart L, Scerbavicius R, Choe KH, Moore M, Sullivan A, Nicolls MR, Fontenot AP, Tudor RM, Voelkel NF. 2005. An animal model of autoimmune emphysema. *Am J Respir Crit Care Med*, 171 (7):734-742.

Taylor PC. 2005. Serum vascular markers and vascular imaging in assessment of rheumatoid arthritis disease activity and response to therapy. *Rheumatology (Oxford)*, 44 (6):721-728.

Tazelaar HD, Wright JL, Churg A. 2011. Desquamative interstitial pneumonia. *Histopathology*, 58 (4):509-516.

Toivanen P. 2001. From reactive arthritis to rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*, 16 (3):369-371.

Torina A, Guggino G, La Manna MP, Sireci G. 2018. The Janus Face of NKT Cell Function in Autoimmunity and Infectious Diseases. *Int J Mol Sci*, 19 (2).

Travis WD, Costabel U, Hansell DM, King TE, Jr., Lynch DA, Nicholson AG, Ryerson CJ, Ryu JH, Selman M, Wells AU, Behr J, Bouros D, Brown KK, Colby TV, Collard HR, Cordeiro CR, Cottin V, Crestani B, Drent M, Dudden RF, Egan J, Flaherty K, Hogaboam C, Inoue Y, Johkoh T, Kim DS, Kitaichi M, Loyd J, Martinez FJ, Myers J, Protzko S, Raghu G, Richeldi L, Sverzellati N, Swigris J, Valeyre D, Pneumonias AEColl. 2013. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med*, 188 (6):733-748.

Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P, Mapp CE, Ruggieri MP, Roggeri A, Fabbri LM, Saetta M. 1995. Effect of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med*, 152 (4 Pt 1):1262-1267.

Tzanakis N, Chrysofakis G, Tsoumakidou M, Kyriakou D, Tsiligianni J, Bouros D, Siafakas NM. 2004. Induced sputum CD8⁺ T-lymphocyte subpopulations in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*, 98 (1):57-65.

Urbanowicz RA, Lamb JR, Todd I, Corne JM, Fairclough LC. 2010. Enhanced effector function of cytotoxic cells in the induced sputum of COPD patients. *Respir Res*, 11:76.

Urboniene D, Babusyte A, Lotvall J, Sakalauskas R, Sitkauskienė B. 2013. Distribution of gammadelta and other T-lymphocyte subsets in patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Respir Med*, 107 (3):413-423.

Valeyre D, Soler P, Clerici C, Pre J, Battesti JP, Georges R, Hance AJ. 1988. Smoking and pulmonary sarcoidosis: effect of cigarette smoking on prevalence, clinical manifestations, alveolitis, and evolution of the disease. *Thorax*, 43 (7):516-524.

van der Strate BW, Postma DS, Brandsma CA, Melgert BN, Luinge MA, Geerlings M, Hylkema MN, van den Berg A, Timens W, Kerstjens HA. 2006. Cigarette smoke-induced emphysema: A role for the B cell? *Am J Respir Crit Care Med*, 173 (7):751-758.

Vassallo R, Ryu JH. 2012. Smoking-related interstitial lung diseases. *Clin Chest Med*, 33 (1):165-178.

Vassallo R, Jensen EA, Colby TV, Ryu JH, Douglas WW, Hartman TE, Limper AH. 2003. The overlap between respiratory bronchiolitis and desquamative interstitial pneumonia in pulmonary Langerhans cell histiocytosis: high-resolution CT, histologic, and functional correlations. *Chest*, 124 (4):1199-1205.

Wang J, Urbanowicz RA, Tighe PJ, Todd I, Corne JM, Fairclough LC. 2013. Differential activation of killer cells in the circulation and the lung: a study of current smoking status and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *PLoS One*, 8 (3):e58556.

Wells AU, Nicholson AG, Hansell DM. 2007. Challenges in pulmonary fibrosis . 4: smoking-induced diffuse interstitial lung diseases. *Thorax*, 62 (10):904-910.

Wiken M, Grunewald J, Eklund A, Wahlstrom J. 2012. Multiparameter phenotyping of T-cell subsets in distinct subgroups of patients with pulmonary sarcoidosis. *J Intern Med*, 271 (1):90-103.

Yang SR, Chida AS, Bauter MR, Shafiq N, Seweryniak K, Maggirwar SB, Kilty I, Rahman I. 2006. Cigarette smoke induces proinflammatory cytokine release by activation of NF-kappaB and posttranslational modifications of histone deacetylase in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 291 (1):L46-57.

Yousem SA, Colby TV, Gaensler EA. 1989. Respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease and its relationship to desquamative interstitial pneumonia. *Mayo Clin Proc*, 64 (11):1373-1380.

10 Anhang

Abbildungsverzeichnis:

Abbildung 1: Computertomographische Veränderungen bei RB-ILD (Respiratorischer Bronchiolitis-Interstitieller Lungenerkrankung).....	11
Abbildung 2: Diagnostischer Algorithmus bei Verdacht auf Bronchiolitis	19
Abbildung 3: Gefärbter Zytospin zweier Patienten mit RB-ILD mit Pigment-beladenen Makrophagen (dunkelblau) und kleineren Lymphozyten (hellblau).....	23
Abbildung 4: Verteilung des Alters der rekrutierten Patienten.....	28
Abbildung 5: Verteilung des Geschlechts der rekrutierten Patienten.....	29
Abbildung 6: Ausmaß des Zigarettenkonsums der rekrutierten Patienten.....	29
Abbildung 7: Zahl der Leukozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	31
Abbildung 8: Zahl der Erythrozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	32
Abbildung 9: Zahl der Thrombozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	33
Abbildung 10: Relativer Anteil der Lymphozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	35
Abbildung 11: Relativer Anteil der neutrophilen Granulozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	36
Abbildung 12: Relativer Anteil der eosinophilen Granulozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	37
Abbildung 13: Relativer Anteil der basophilen Granulozyten im Blut von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	37
Abbildung 14: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD3 ⁺ T-Lymphozyten bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH=	

histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	39
Abbildung 15: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD4 ⁺ T-Lymphozyten bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD (n=14), RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	41
Abbildung 16: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD8 ⁺ T-Lymphozyten bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	42
Abbildung 17: Verteilung des CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Quotienten bronchoalveolärer T-Zellen bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n =14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	44
Abbildung 18: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD4 ⁺ CD25 ⁺ T-Lymphozyten bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	45
Abbildung 19: Relativer Anteil der bronchoalveolären CD4 ⁺ CD103 ⁺ T-Lymphozyten bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=21).....	47
Abbildung 20: Relativer Anteil der bronchoalveolären B-Zellen bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	48
Abbildung 21: Relativer Anteil der bronchoalveolären Pigmentmakrophagen bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	50

Abbildung 22: Relativer Anteil der bronchoalveolären NK-Zellen bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	51
Abbildung 23: Relativer Anteil der bronchoalveolären NKT-Zellen bei den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21), bei Patienten mit Sarkoidose (n=10) und der gesunden Kontrollgruppe (n=12).....	53
Abbildung 24: Forciertes expiratorisches Volumen (FEV1) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).	55
Abbildung 25: Relative Einsekundenkapazität (FEV1/VC) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	56
Abbildung 26: Residualvolumen (RV) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	57
Abbildung 27: Totale Lungenkapazität (TLC) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	58
Abbildung 28: Transferkoeffizient (DLCO/VA) von Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10).....	59
Abbildung 29: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit Emphysem im HRCT.....	61
Abbildung 30: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit Mosaikmuster im HRCT.....	62
Abbildung 31: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit zentrilobulären Noduli im HRCT.....	62

Abbildung 32: Anteil der Patienten mit RB-ILD (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD: n=14, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD: n=7, RB-ILDG= RB-ILD gesamt: n=21) und Sarkoidose (n=10) mit Lymphadenopathie im HRCT.....	63
Abbildung 33: An der Pathogenese der Respiratorischen Bronchiolitis-Interstitiellen Lungenerkrankung (RB-ILD) beteiligte Entzündungszellen der angeborenen und adaptiven Immunität.....	74
Abbildung 34: Mögliche Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Manifestationsformen der raucherassoziierten Erkrankungen.....	75

Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1 : Einteilung der raucherassoziierten interstitiellen Lungenerkrankungen.....	8
Tabelle 2: Vergleich RB-ILD mit DIP (Desquamative Interstitielle Pneumonie) und PLCH (Pulmonale Langerhans-Zell-Histiozytose)	13
Tabelle 3: Alter, Geschlecht und Anzahl der mittleren Packungsjahre bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen.....	19
Tabelle 4: Zahl der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten im Blut von Patienten mit Sarkoidose und den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD, RB-ILDG= RB-ILD gesamt).....	30
Tabelle 5: Relativer Anteil der Lymphozyten, Neutrophilen, Eosinophilen und Basophilen im Blut von Patienten mit Sarkoidose und den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD, RB-ILDG= RB-ILD gesamt).....	34
Tabelle 6: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD3 ⁺ T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen.....	38
Tabelle 7: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD4 ⁺ T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen.....	40
Tabelle 8: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD8 ⁺ T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen.....	42
Tabelle 9: Verteilung des CD4 ⁺ /CD8 ⁺ -Quotienten bronchoalveolärer T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen.....	43

Tabelle 10: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD4 ⁺ CD25 ⁺ T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden	
Kontrollen.....	45
Tabelle 11: Relativer Anteil bronchoalveolärer CD4 ⁺ CD103 ⁺ T-Lymphozyten bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden	
Kontrollen.....	46
Tabelle 12: Relativer Anteil bronchoalveolärer B-Zellen bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden	
Kontrollen.....	48
Tabelle 13: Relativer Anteil bronchoalveolärer Pigmentmakrophagen bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden	
Kontrollen.....	49
Tabelle 14: Relativer Anteil bronchoalveolärer NK-Zellen bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden	
Kontrollen.....	51
Tabelle 15: Relativer Anteil bronchoalveolärer NKT-Zellen bei Patienten mit RB-ILD sowie Sarkoidose und Gesunden Kontrollen.....	
	52
Tabelle 16: Forciertes expiratorisches Volumen, relative Einsekundenkapazität, Residualvolumen sowie totale Lungenkapazität von Patienten mit Sarkoidose und den RB-ILD-Gruppen (RB-ILD= nicht histologisch-gesicherte RB-ILD, RB-ILDH= histologisch-gesicherte RB-ILD, RB-ILDG= RB-ILD gesamt).....	
	54
Tabelle 17: Transferkoeffizient der Patienten mit Sarkoidose sowie der RB-ILD-Gruppen.....	
	59
Tabelle 18: Emphysem, Mosaikmuster, zentrilobuläre Noduli und Lymphadenopathie im HRCT bei Patienten mit Sarkoidose und den RB-ILD-Gruppen.....	
	60
Tabelle 19: Muster der Zellverteilung bei RB-ILD, Sarkoidose, COP (Kryptogene organisierende Pneumonie) und EAA (Exogene Allergische Alveolitis).....	
	78

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Prof. Dr. Dr. med. Claus Kroegel,

Dr. Martin Förster

Pneumologische Arbeitsgruppe der Universitätsklinik Jena

Pneumologische, pathologische und radiologische Abteilung der Universitätsklinik Jena

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Rosenheim, den 30.08.2020

Julie Bloem (geb. Wagner)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt hierbei Herrn Professor Dr. Dr. med. Claus Kroegel, Leiter der Pneumologie der Universitätsklinik Jena, für die Themastellung, Durchführung der BAL und hervorragende wissenschaftliche Betreuung in den letzten Jahren.

Des Weiteren danke ich der pneumologischen Arbeitsgruppe der Universitätsklinik Jena für die Rekrutierung der Kontrollgruppen sowie Herrn Dr. Martin Förster für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Außerdem gilt mein Dank dem gesamten Team der pneumologischen, pathologischen und radiologischen Abteilung der Universitätsklinik Jena für die Durchführung und primäre Auswertung der diagnostischen Untersuchungen, welche durch Zusammentragen und weiterer Beurteilung im Rahmen des Gesamtkontextes (u.a. Analyse der BAL, Festlegung der Ein-/Ausschlusskriterien) meinerseits zu den wissenschaftlichen Erkenntnissen dieser Dissertation führten.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Familie - insbesondere bei meinen Eltern – für die liebevolle Unterstützung während meines gesamten Studiums und der Dissertation bedanken.